

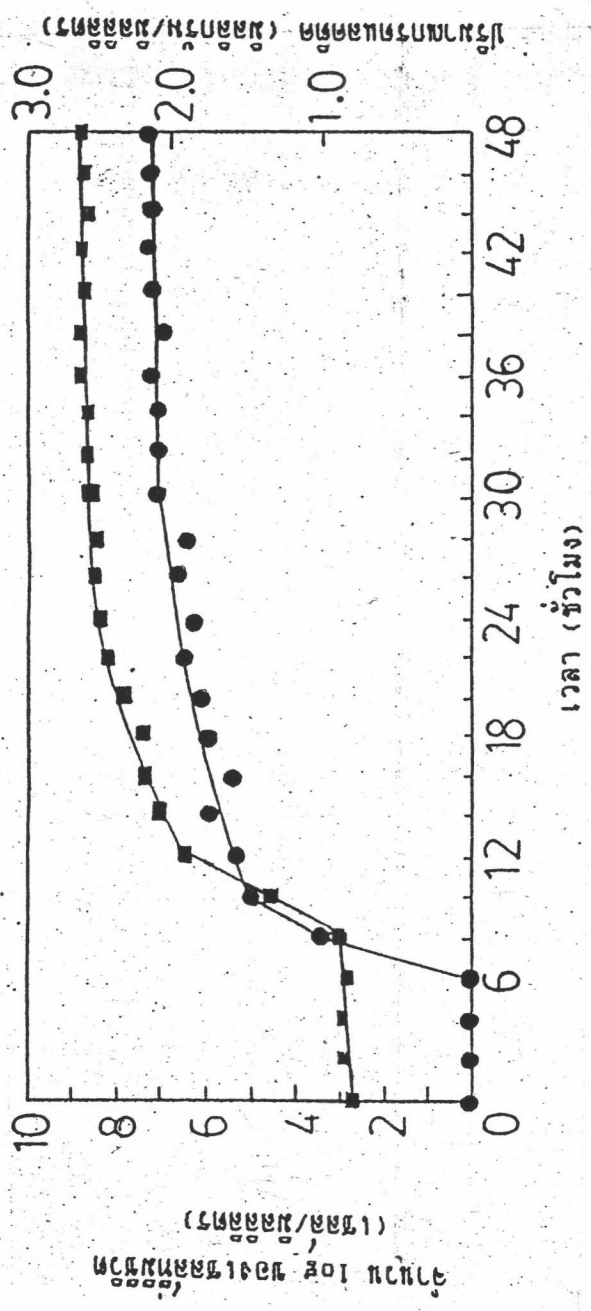
ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

5.1 การเพาะเลี้ยงจุลินทรีย์

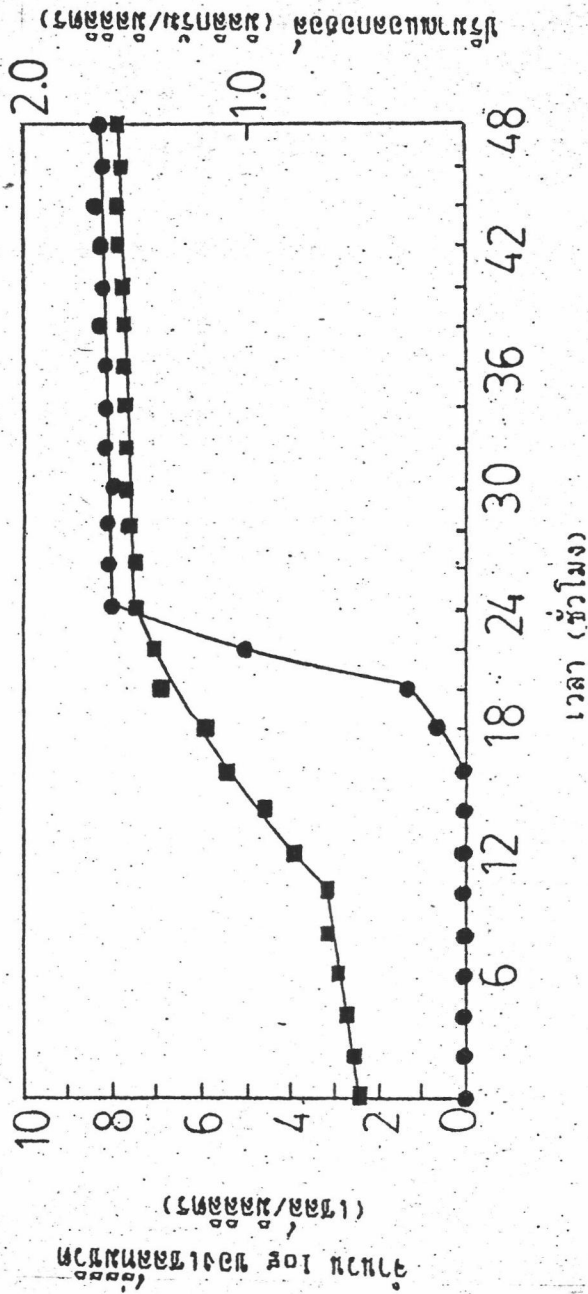
จากการศึกษาการเจริญเติบโตของ L. delbrueckii ในอาหารเหลว GYP ที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส และการเจริญเติบโตของ S. rouxii ในอาหารเหลว YM ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส โดยติดตามค่าการดูดกลืนแสงที่ 550 นาโนเมตร และปริมาณกรดแลคติกและแอลกอฮอล์ ณ เวลาต่างๆ ให้ผลการทดลองดังรูปที่ 5.1 และ 5.2 ตามลำดับ

จากการทดลองดังรูปที่ 5.1 และ 5.2 แสดงให้เห็นว่า เมื่อเพาะเลี้ยง L. delbrueckii ในอาหารเหลว GYP ที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 ชั่วโมง และ S. rouxii ในอาหารเหลว YM ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จุลินทรีย์ทั้งสองมีอัตราการเจริญเติบโตคงที่ ซึ่งเป็นช่วงเริ่มต้นของ stationary phase ช่วงเวลาดังกล่าวจุลินทรีย์มีปริมาณเซลล์และแอกติวิตีในการสร้างผลิตภัณฑ์สูงสุด (Tortora, Funke and Case, 1992) จึงเหมาะต่อการนำมาเตรียมสารแขวนลอยเซลล์ เพื่อใช้ในการตรึงรูปเซลล์จุลินทรีย์ร่วมกันแบบห่อหุ้มในช่องตาข่ายเจลแคลเซียมอัลจิเนต

L. delbrueckii และ S. rouxii เป็นจุลินทรีย์ที่ถูกค้นพบว่ามีบทบาทต่อการหมักน้ำชีวในช่วงเมโรมิเป็นอย่างมาก โดย L. delbrueckii สร้างกรดแลคติกจากน้ำตาลหรือการหมักกรดแลคติก (lactic acid fermentation) ในขณะที่ S. rouxii เปลี่ยนน้ำตาลเป็นแอลกอฮอล์และสารประกอบอื่นๆ หรือ การหมักแอลกอฮอล์ (alcohol fermentation) ซึ่งมีรายงานการแยกจุลินทรีย์ทั้งสองชนิดของสุทธิศักดิ์ (2522), ภา (2531), วารุณี (2532), Lockwood (1947), Hesseline (1965), Fukushima (1968), Yong and Wood (1977b) แต่การเลือกใช้จุลินทรีย์ชนิดใดชนิดหนึ่งนั้น ขึ้นอยู่กับการพิจารณาของผู้วิจัยแต่ละคนเป็นหลัก



รูปที่ 5.1 การเจริญเติบโตของ *L. delbrueckii* ในอาหารเหลว GYP ที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง
 ■ คือ จำนวน log ของเซลล์ที่มีชีวิต และ ● คือ ปริมาณการแตกตัก



รูปที่ 5.2 การเจริญเติบโตของ *S. rouxii* ในอาหารเหลว YM ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง
 □ คือ จำนวน log ของเซลล์ที่วัด และ ● คือ ปริมาณแอลกอฮอล์

5.2 การศึกษาภาวะที่เหมาะสมในการตรึงรูปเซลล์จุลินทรีย์ร่วมกัน

5.2.1 อัตราส่วนของสารแขวนลอยเซลล์ระหว่าง *Lactobacillus delbrueckii* กับ *Saccharomyces rouxii* และร้อยละของสารแขวนลอยเซลล์จุลินทรีย์ทั้งสอง ในสารละลายไซโตเดียมอัลจินเต

ตรึงรูปเซลล์จุลินทรีย์ร่วมกันโดยใช้อัตราส่วนของสารแขวนลอยเซลล์ระหว่าง *L. delbrueckii* และ *S. rouxii* เป็น 1:1, 2:1 และ 1:2 และใช้ร้อยละของสารแขวนลอยเซลล์จุลินทรีย์ทั้งสองชนิดในสารละลายไซโตเดียมอัลจินเตเป็นร้อยละ 1, 2, 3, และ 4 จากผลการทดลอง เมื่อวิเคราะห์ความแปรปรวนของข้อมูลที่ได้ พบว่าทั้งอัตราส่วนของสารแขวนลอยเซลล์ระหว่าง *L. delbrueckii* และ *S. rouxii* และร้อยละของสารแขวนลอยเซลล์จุลินทรีย์ทั้งสองมีผลต่อปริมาณกรดแลคติก แอลกอฮอล์ และค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 550 นาโนเมตร อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ดังตารางที่ 5.2

เนื่องจากปัจจัยร่วม (AB) มีผลต่อปริมาณกรดแลคติก แอลกอฮอล์ และค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 550 นาโนเมตร อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ความเชื่อมั่นร้อยละ 95 การเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยปริมาณกรดแลคติก แอลกอฮอล์ และค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 550 นาโนเมตร โดยวิธี Duncan's new multiple range test จึงพิจารณาาร่วมกันทั้งสองปัจจัย ดังแสดงในตารางที่ 5.1

ตารางที่ 5.1 ปริมาณกรดแลคติก แอลกอฮอล์ และค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 550 นาโนเมตร เมื่อตรึงรูปเซลล์จุลินทรีย์ร่วมกันโดยใช้อัตราส่วนของสารแขวนลอย เซลล์ระหว่าง *L. delbrueckii* และ *S. rouxii* และร้อยละของสารแขวนลอย เซลล์จุลินทรีย์ทั้งสองชนิดในสารละลายไซโตเดียมอัลจินต

อัตราส่วน ของสาร แขวนลอยเซลล์	ร้อยละ ของสาร แขวนลอยเซลล์	ปริมาณ กรดแลคติก (มิลลิกรัม/มิลลิลิตร)	ปริมาณ แอลกอฮอล์ (มิลลิกรัม/มิลลิลิตร)	ค่าการดูดกลืนแสง ที่ 550 นาโนเมตร
1:1	1	1.67±0.11 ^a	0.62±0.22 ^{fg}	0.235±0.011 ^b
	2	1.61±0.02 ^{ab}	0.48±0.00 ^g	0.178±0.024 ^d
	3	1.46±0.21 ^c	0.82±0.01 ^{de}	0.256±0.020 ^a
	4	1.59±0.14 ^{abc}	0.96±0.05 ^d	0.174±0.009 ^d
2:1	1	1.71±0.01 ^a	0.75±0.10 ^{ef}	0.260±0.033 ^a
	2	1.66±0.10 ^a	0.78±0.01 ^{ef}	0.220±0.015 ^{bc}
	3	1.63±0.02 ^{ab}	0.76±0.12 ^{ef}	0.206±0.022 ^c
	4	1.20±0.01 ^{de}	0.67±0.02 ^{ef}	0.132±0.007 ^f
1:2	1	1.51±0.04 ^{bc}	1.90±0.03 ^c	0.163±0.011 ^{de}
	2	1.28±0.22 ^d	2.08±0.12 ^b	0.226±0.028 ^{bc}
	3	1.21±0.00 ^e	2.42±0.03 ^a	0.142±0.041 ^f
	4	1.10±0.01 ^e	2.38±0.21 ^a	0.148±0.013 ^f

a,b,c,... ตัวเลขที่มีอักษรต่างกันกำกับ แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ที่ความเชื่อมั่นร้อยละ 95

ตารางที่ 5.2 การวิเคราะห์ความแปรปรวนค่าของกรดแลคติก แอลกอฮอล์ และการดูดกลืนแสง ที่ความยาวคลื่น 550 นาโนเมตร เมื่อตรึงรูปเซลล์จุลินทรีย์ร่วมกันโดยใช้อัตราส่วนของสารแขวนลอยเซลล์ระหว่าง L. delbrueckii และ S. rouxii และ ร้อยละของสารแขวนลอยเซลล์จุลินทรีย์ทั้งสองชนิดในสารละลายภายในสัปดาห์เลี้ยง

ปัจจัย	df	กรดแลคติก			แอลกอฮอล์			ค่าการดูดกลืนแสง			
		SS.	MS.	ค่า F	SS.	MS.	ค่า F	SS.	MS.	ค่า F	
อัตราส่วนของ											
สารแขวนลอยเซลล์ (A)	2	0.40	0.20	50.00*	11.48	5.74	114.80*	0.01	0.005		62.50*
ร้อยละของ											
สารแขวนลอยเซลล์ (B)	3	0.15	0.05	12.50*	0.32	0.11	22.00*	0.02	0.007		87.50*
AB	6	0.40	0.07	17.50*	0.33	0.06	12.00*	0.02	0.003		37.50*
Error	12	0.05	0.004		0.06	0.005		0.001	0.00008		

* แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ที่ความเชื่อมั่นร้อยละ 95

เมื่อพิจารณาค่าการดูดกลืนแสงซึ่งมีค่าน้อยและไม่แตกต่างกัน ร่วมกับปริมาณกรดแลคติกที่มากกว่าค่าเฉลี่ย (1.43 ± 0.04) พบว่าอัตราส่วนของสารแขวนลอยเซลล์ระหว่าง *L. delbrueckii* และ *S. rouxii* และร้อยละของสารแขวนลอยเซลล์จุลินทรีย์ทั้งสอง ที่ควรพิจารณา คือ อัตราส่วน 1:1 กับร้อยละ 2 อัตราส่วน 1:1 กับร้อยละ 4 และอัตราส่วน 1:2 กับร้อยละ 1 เนื่องจากอัตราส่วน 1:1 ร้อยละ 2 และร้อยละ 4 ให้ค่าปริมาณกรดแลคติกที่ไม่แตกต่างกัน จึงเลือกใช้อัตราส่วน 1:1 กับร้อยละ 2 เพราะใช้ร้อยละของสารแขวนลอยเซลล์จุลินทรีย์ทั้งสองน้อยกว่า ดังนั้นอัตราส่วน 1:1 กับร้อยละ 2 จึงเป็นกรณีที่เลือกสำหรับการหมักเพื่อให้เกิดกรดแลคติกต่อไป

เมื่อพิจารณาค่าการดูดกลืนแสง ซึ่งมีค่าน้อยกว่าค่าเฉลี่ย (0.193 ± 0.0004) ร่วมกับปริมาณแอลกอฮอล์ที่มากกว่าค่าเฉลี่ย (1.22 ± 0.05) พบว่าอัตราส่วนของสารแขวนลอยเซลล์ระหว่าง *L. delbrueckii* และ *S. rouxii* และร้อยละของสารแขวนลอยเซลล์จุลินทรีย์ทั้งสอง ที่ควรพิจารณา คือ อัตราส่วน 1:2 กับร้อยละ 1 อัตราส่วน 1:2 กับร้อยละ 3 และอัตราส่วน 1:2 กับร้อยละ 4 เนื่องจากอัตราส่วน 1:2 ร้อยละ 3 กับร้อยละ 4 ให้ค่าปริมาณแอลกอฮอล์ที่ไม่แตกต่างกัน จึงเลือกใช้อัตราส่วน 1:2 กับร้อยละ 3 เพราะใช้ร้อยละของสารแขวนลอยเซลล์จุลินทรีย์ทั้งสองน้อยกว่า ดังนั้นอัตราส่วน 1:2 กับร้อยละ 3 จึงเป็นกรณีที่เลือกสำหรับการหมักเพื่อให้เกิดแอลกอฮอล์ต่อไป

สำหรับอัตราส่วน 1:2 กับร้อยละ 1 ซึ่งผ่านเกณฑ์การคัดเลือกทั้ง 2 กรณี จัดว่าเป็นกรณีที่เลือกสำหรับการหมักเพื่อให้เกิดกรดแลคติกร่วมกับแอลกอฮอล์ต่อไป

เนื่องจากการตรึงรูปในการทดลองนี้เป็นการตรึงรูปเซลล์จุลินทรีย์ 2 ประเภทเข้าด้วยกัน คือ *L. delbrueckii* ซึ่งเป็นแบคทีเรีย และ *S. rouxii* ซึ่งเป็นยีสต์ เซลล์จุลินทรีย์ทั้งสองชนิดมีขนาดแตกต่างกันอย่างชัดเจน กล่าวคือ *L. delbrueckii* มีขนาด $0.5-0.8 \times 2-9$ ไมครอนเมตร (Buchanan and Gibbons, 1975) ซึ่งเล็กกว่า *S. rouxii* ที่มีขนาด $2.5-7.0 \times 4.0-9.5$ ไมครอนเมตร (Kraeger-van Rij, 1984) เมื่อนำเซลล์จุลินทรีย์ทั้งสองมาตรึงรูปรวมกันด้วยอัตราส่วนที่แตกต่างกัน จึงให้ผลการทดลองที่แตกต่างกันเป็น 3 กรณีดังกล่าวข้างต้น เมื่อจุลินทรีย์ชนิดใดถูกห่อหุ้มในช่องตาข่ายของเจลเคลือบมัลติเมอร์มากกว่าอีกชนิดหนึ่ง จุลินทรีย์ชนิดนั้นย่อมมีโอกาสสัมผัสกับสเตรตที่มีอยู่เพื่อการเจริญเติบโตและ

สร้างผลิตภัณฑ์ได้ดีกว่า นั่นคือ ในกรณีการหมักกรดแลคติก L. delbrueckii ซึ่งเป็นแบคทีเรียสร้างกรดแลคติกถูกห่อหุ้มในโครงตาข่ายมากกว่า ส่วนกรณีการหมักแอลกอฮอล์ S. rouxii ซึ่งเป็นยีสต์สร้างแอลกอฮอล์ถูกห่อหุ้มในโครงตาข่ายมากกว่า และในกรณีการหมักกรดแลคติก ร่วมกับการหมักแอลกอฮอล์ ทั้ง L. delbrueckii และ S. rouxii ถูกห่อหุ้มในโครงตาข่ายในปริมาณที่ใกล้เคียงกัน

ถึงแม้ว่าวัตถุประสงค์หลักของการนำเซลล์จุลินทรีย์ทั้งสองชนิดมาตรึงรูปร่วมกัน เพื่อทำให้เกิดกระบวนการหมัก 2 ชนิดควบคู่กันไปในเวลาเดียวกัน แต่การพิจารณาแยกออกเป็น 3 กรณีดังกล่าวข้างต้นโดยเฉพาะการหมักกรดแลคติก และการหมักแอลกอฮอล์ มีจุดประสงค์เพื่อพิจารณาความเป็นไปได้ในการใช้ประโยชน์กรณีใดกรณีหนึ่งเพียงกรณีเดียวถ้าหากวัตถุดิบที่นำมาใช้ในกระบวนการหมักน้ำซีอิ้วมีสมบัติที่เพียงพอต่อการหมักเฉพาะกรณี เช่น ถ้าวัตถุดิบที่นำมาผลิตน้ำซีอิ้วมีปริมาณกรดแลคติกสูงอยู่แล้ว แต่กลิ่นรสยังไม่ดีพอ ก็สามารถนำเซลล์จุลินทรีย์ตรึงรูปร่วมกัน ในกรณีการหมักแอลกอฮอล์มาหมักวัตถุดิบนั้นต่อ

5.2.2 ความเข้มข้นของสารละลายไซเตียมอัลจีเนต และสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ที่ใช้ในการตรึงรูป

ตรึงรูปเซลล์จุลินทรีย์ร่วมกัน โดยใช้ความเข้มข้นของสารละลายไซเตียมอัลจีเนต เป็นร้อยละ 2, 3, และ 4 และใช้ความเข้มข้นของสารละลายแคลเซียมคลอไรด์เป็นร้อยละ 2, 3, และ 4

5.2.2.1 กรณี que เลือกสำหรับการหมักเพื่อให้เกิดกรดแลคติก

จากผลการทดลองเมื่อวิเคราะห์ความแปรปรวนของข้อมูลที่ได้ พบว่า ทั้งความเข้มข้นของสารละลายโซเดียมอัลจิเนตและสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ มีผลต่อปริมาณกรดแลคติก และค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 550 นาโนเมตร อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ดังตารางที่ 5.4

เนื่องจากปัจจัยร่วม (AB) มีผลต่อปริมาณกรดแลคติก และค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 550 นาโนเมตร อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ความเชื่อมั่นร้อยละ 95 การเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยปริมาณกรดแลคติก และค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 550 นาโนเมตรโดยวิธี Duncan's new multiple range test จึงพิจารณาว่าร่วมกันทั้งสองปัจจัย ดังแสดงในตารางที่ 5.3

ตารางที่ 5.3 ปริมาณกรดแลคติก แอลกอฮอล์ และค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 550 นาโนเมตร เมื่อตรึงรูปเซลล์จุลินทรีย์ร่วมกันโดยใช้ความเข้มข้นของสารละลายไซเตียมอัลจินตและสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ต่างๆ สำหรับการหมักเพื่อให้เกิดกรดแลคติก

ความเข้มข้นของ ของสารละลาย ไซเตียมอัลจินต (ร้อยละ)	ความเข้มข้นของ ของสารละลาย แคลเซียมคลอไรด์ (ร้อยละ)	ปริมาณกรดแลคติก (มิลลิกรัม/ มิลลิลิตร)	ปริมาณแอลกอฮอล์ (มิลลิกรัม/ มิลลิลิตร)	ค่าการดูดกลืนแสง ที่ 550 นาโนเมตร
2	2	1.20±0.08 ^b	1.27±0.17	0.418±0.013 ^a
	3	1.18±0.12 ^b	0.99±0.02	0.204±0.020 ^{bc}
	4	1.14±0.05 ^{bc}	1.00±0.02	0.166±0.009 ^c
3	2	1.19±0.13 ^c	1.11±0.01	0.362±0.014 ^{ab}
	3	1.06±0.11 ^c	1.18±0.15	0.172±0.032 ^c
	4	1.24±0.02 ^{ab}	1.04±0.08	0.130±0.007 ^c
4	2	1.20±0.10 ^b	1.15±0.11	0.394±0.060 ^a
	3	1.17±0.02 ^b	1.09±0.01	0.185±0.033 ^c
	4	1.33±0.23 ^a	1.18±0.10	0.222±0.048 ^{bc}

a, b, c, ... ตัวเลขที่มีอักษรต่างกันกำกับ แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ที่ความเชื่อมั่นร้อยละ 95

ตารางที่ 5.4 การวิเคราะห์ความแปรปรวนค่าของการแตกหัก แอลกอฮอล์ และการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 550 นาโนเมตร เมื่อตั้งรูปแช่ลึกลงที่รียร่วมกัน โดยใช้ความเข้มข้นของสารละลายรายวันเดียวมีเงินต้นและสารละลายรายวันต่าง ๆ สำหรับการทำซ้ำเพื่อให้เกิดการแตกหัก

ปัจจัย	df	การแตกหัก		แอลกอฮอล์			ค่าการดูดกลืนแสง						
		SS.	MS.	ค่า F	SS.	MS.	ค่า F	SS.	MS.	ค่า F			
ความเข้มข้นของสารละลาย													
โซเดียมอัลจีเนต (A)	2	0.04	0.02	10.00*	0.01	0.005	0.25	0.20	0.10	250.00*			
ความเข้มข้นของสารละลาย													
แคลเซียมคลอไรด์ (B)	2	0.03	0.02	10.00*	0.04	0.02	1.00	0.18	0.09	225.00*			
AB	4	0.04	0.01	5.00*	0.09	0.02	1.00	0.01	0.002	5.00*			
Error	9	0.02	0.002		0.15	0.02		0.004	0.0004				

* แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ที่ความเชื่อมั่นร้อยละ 95

เมื่อพิจารณาค่าการดูดกลืนแสง ซึ่งมีค่าน้อยกว่าค่าเฉลี่ย (0.025 ± 0.050) พบว่าความเข้มข้นของสารละลายไซเตียมอัลจินตและสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ ที่ควรพิจารณา คือ ร้อยละ 2 กับร้อยละ 3 ร้อยละ 2 กับร้อยละ 4 ร้อยละ 3 กับร้อยละ 3 ร้อยละ 3 กับร้อยละ 4 ร้อยละ 4 กับร้อยละ 3 และ ร้อยละ 4 กับร้อยละ 4 เมื่อพิจารณาปริมาณกรดแลคติกที่มากควรพิจารณา พบว่าความเข้มข้นของสารละลายไซเตียมอัลจินตและสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ ที่ควรพิจารณา คือ ร้อยละ 3 กับร้อยละ 4 และ ร้อยละ 4 กับร้อยละ 4 เนื่องจากสารละลายไซเตียมอัลจินต ความเข้มข้นร้อยละ 3 กับสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ ความเข้มข้นร้อยละ 4 และสารละลายไซเตียมอัลจินต ความเข้มข้นร้อยละ 4 กับสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ ความเข้มข้นร้อยละ 4 ให้ปริมาณกรดแลคติกที่ไม่แตกต่างกัน จึงเลือกใช้สารละลายไซเตียมอัลจินต ความเข้มข้นร้อยละ 3 กับสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ ความเข้มข้นร้อยละ 4 เพราะใช้สารละลายไซเตียมอัลจินตความเข้มข้นต่ำกว่า

5.2.2.2 กรณี que เลือกสำหรับการหมัก เพื่อให้เกิด เพื่อให้เกิดแอลกอฮอล์

จากผลการทดลองเมื่อวิเคราะห์ความแปรปรวนของข้อมูลที่ได้ พบว่าทั้งความเข้มข้นของสารละลายไซเตียมอัลจินตและสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ มีผลต่อปริมาณกรดแลคติก แอลกอฮอล์ และค่าการดูดกลืนแสง ที่ความยาวคลื่น 550 นาโนเมตร อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ดังตารางที่ 5.6

เนื่องจากปัจจัยร่วม (AB) มีผลต่อปริมาณกรดแลคติก แอลกอฮอล์ และค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 550 นาโนเมตร อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ความเชื่อมั่นร้อยละ 95 การเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 550 นาโนเมตร โดยวิธี Duncan's new multiple range test จึงพิจารณาร่วมกันทั้งสองปัจจัย ดังแสดงในตารางที่ 5.5

ตารางที่ 5.5 ปริมาณกรดแลคติก แอลกอฮอล์ และค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 550 นาโนเมตร เมื่อตั้งรูปเซลล์จุลินทรีย์ร่วมกันโดยใช้ความเข้มข้นของสารละลาย โซเดียมอัลจิเนตและสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ต่างๆ สำหรับการหมักเพื่อให้เกิดแอลกอฮอล์

ความเข้มข้นของ ของสารละลาย โซเดียมอัลจิเนต (ร้อยละ)	ความเข้มข้นของ ของสารละลาย แคลเซียมคลอไรด์ (ร้อยละ)	ปริมาณ กรดแลคติก (มิลลิกรัม/ มิลลิลิตร)	ปริมาณ แอลกอฮอล์ (มิลลิกรัม/ มิลลิลิตร)	ค่าการดูดกลืนแสง ที่ 550 นาโนเมตร
2	2	1.05±0.13 ^a	1.96±0.01 ^{bc}	0.359±0.087 ^{bcd}
	3	0.92±0.06 ^b	2.24±0.25 ^a	0.369±0.055 ^{bc}
	4	1.00±0.02 ^a	1.76±0.00 ^d	0.454±0.018 ^{ab}
3	2	1.02±0.20 ^a	1.82±0.03 ^{cd}	0.558±0.033 ^a
	3	0.89±0.02 ^{bc}	2.12±0.24 ^{ab}	0.266±0.051 ^{cd}
	4	1.01±0.06 ^a	2.13±0.03 ^{ab}	0.375±0.002 ^b
4	2	1.02±0.02 ^a	2.16±0.10 ^a	0.520±0.026 ^a
	3	0.92±0.00 ^{bc}	2.19±0.06 ^a	0.362±0.041 ^{bcd}
	4	0.87±0.01 ^c	1.91±0.07 ^{cd}	0.257±0.082 ^d

a,b,c,... ตัวเลขที่มีอักษรต่างกันกำกับ แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ที่ความเชื่อมั่นร้อยละ 95

ตารางที่ 5.6 การวิเคราะห์ความแปรปรวนค่าของกรดแลคติก แอลกอฮอล์ และการดูดกลืนแสง ที่ความยาวคลื่น 550 นาโนเมตร เมื่อตั้งรูปเซลล์คู่กันที่เดียวกัน โดยใช้ความเข้มข้นของสารละลายโปรตีนเดียวกัน และสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ต่างๆ สำหรับการหมักเพื่อให้เกิดแอลกอฮอล์

ปัจจัย	df	การแตกตัว			แอลกอฮอล์			ค่าการดูดกลืนแสง		
		SS.	MS.	ค่า F	SS.	MS.	ค่า F	SS.	MS.	ค่า F
ความเข้มข้นของสารละลายโปรตีนอัลจินเต (A)	2	0.01	0.005	12.50*	0.01	0.05	8.33*	0.09	0.04	20.00*
ความเข้มข้นของสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ (B)	2	0.04	0.02	500.00*	0.20	0.10	16.67*	0.07	0.04	20.00*
AB	4	0.02	0.005	12.50*	0.20	0.05	8.33*	0.10	0.02	10.00*
Error	9	0.004	0.004		0.05	0.006		0.02	0.002	

* แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ที่ความเชื่อมั่นร้อยละ 95

เมื่อพิจารณาค่าการดูดกลืนแสง ซึ่งมีค่าน้อยกว่าค่าเฉลี่ย (0.391 ± 0.032) พบว่าความเข้มข้นของสารละลายโซเดียมอัลจิเนตและสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ ที่ควรพิจารณา คือ ร้อยละ 2 กับร้อยละ 2 ร้อยละ 3 กับร้อยละ 3 ร้อยละ 4 กับร้อยละ 3 และ ร้อยละ 4 กับร้อยละ 4 เมื่อพิจารณาปริมาณแอลกอฮอล์ที่มากควรพิจารณา พบว่าความเข้มข้นของสารละลายโซเดียมอัลจิเนต และสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ ที่ควรพิจารณา คือ ร้อยละ 3 กับร้อยละ 3 และ ร้อยละ 4 กับร้อยละ 3 เนื่องจากสารละลายโซเดียมอัลจิเนต ความเข้มข้นร้อยละ 3 กับสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ ความเข้มข้นร้อยละ 3 และสารละลายโซเดียมอัลจิเนต ความเข้มข้นร้อยละ 4 กับสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ ความเข้มข้นร้อยละ 3 ให้ปริมาณแอลกอฮอล์ที่ไม่แตกต่างกัน จึงเลือกใช้สารละลายโซเดียมอัลจิเนต ความเข้มข้นร้อยละ 3 กับสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ ความเข้มข้นร้อยละ 3 เพราะใช้สารละลายโซเดียมอัลจิเนตความเข้มข้นต่ำกว่า

5.2.2.3 กรณี que เลือกสำหรับการหมักเพื่อให้เกิดกรดแลคติก ร่วมกับการหมักเพื่อให้เกิดแอลกอฮอล์

จากผลการทดลองเมื่อวิเคราะห์ความแปรปรวนของข้อมูลที่ได้ พบว่าทั้งความเข้มข้นของสารละลายโซเดียมอัลจิเนตและสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ มีผลต่อค่าการดูดกลืนแสง ที่ความยาวคลื่น 550 นาโนเมตร แต่ไม่มีผลต่อปริมาณกรดแลคติก และแอลกอฮอล์ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ดังตารางที่ 5.8

เนื่องจากปัจจัยร่วม (AB) มีผลต่อค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 550 นาโนเมตร อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ความเชื่อมั่นร้อยละ 95 การเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 550 นาโนเมตรโดยวิธี Duncan's new multiple range test จึงพิจารณาร่วมกันทั้งสองปัจจัย ดังแสดงในตารางที่ 5.7

ตารางที่ 5.7 ปริมาณกรดแลคติก แอลกอฮอล์ และค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 550 นาโนเมตร เมื่อตรึงรูปเซลล์จุลินทรีย์ร่วมกันโดยใช้ความเข้มข้นของสารละลาย โซเดียมอัลจีเนตและสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ต่างๆ สำหรับการหมักเพื่อให้เกิดกรดแลคติก ร่วมกับการหมักเพื่อให้เกิดแอลกอฮอล์

ความเข้มข้นของ ของสารละลาย โซเดียมอัลจีเนต (ร้อยละ)	ความเข้มข้นของ ของสารละลาย แคลเซียมคลอไรด์ (ร้อยละ)	ปริมาณ กรดแลคติก (มิลลิกรัม/ มิลลิลิตร)	ปริมาณ แอลกอฮอล์ (มิลลิกรัม/ มิลลิลิตร)	ค่าการดูดกลืนแสง ที่ 550 นาโนเมตร
2	2	1.39±0.13	1.43±0.02	0.209±0.065 ^{ab}
	3	1.34±0.22	1.36±0.10	0.110±0.033 ^e
	4	1.39±0.09	1.30±0.11	0.183±0.041 ^{abc}
3	2	1.37±0.13	1.88±0.10	0.135±0.022 ^{cde}
	3	1.37±0.11	1.56±0.23	0.131±0.039 ^{de}
	4	1.37±0.10	1.49±0.10	0.177±0.005 ^{bcd}
4	2	1.22±0.11	1.56±0.04	0.105±0.009 ^e
	3	1.28±0.20	1.64±0.11	0.118±0.015 ^{de}
	4	1.48±0.12	1.48±0.01	0.242±0.022 ^a

a,b,c,... ตัวเลขที่มีอักษรต่างกันกำกับ แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ที่ความเชื่อมั่นร้อยละ 95

ตารางที่ 5.8 การวิเคราะห์ความแปรปรวนค่าของกรดแลคติก แอลกอฮอล์ และการดูดกลืนแสง ที่ความยาวคลื่น 550 นาโนเมตร เมื่อปรับปรุงพหุคูณกัน โดยให้ความเข้มข้นของสารละลายไซโตซิลิเนตและสารละลายซีมคลอไรด์ต่างๆ สำหรับการหมักเพื่อให้เกิดกรดแลคติก ร่วมกับกาหมักเพื่อให้เกิดแอลกอฮอล์

ปัจจัย	df	กรดแลคติก			แอลกอฮอล์			ค่าการดูดกลืนแสง		
		SS.	MS.	ค่า F	SS.	MS.	ค่า F	SS.	MS.	ค่า F
ความเข้มข้นของสารละลายไซโตซิลิเนต (A)	2	0.01	0.005	0.83	0.25	0.12	1.09	0.001	0.0005	5.00*
ความเข้มข้นของสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ (B)	2	0.03	0.02	3.33	0.12	0.06	0.54	0.02	0.01	100.00*
AB	4	0.05	0.01	1.67	0.09	0.02	0.18	0.02	0.005	50.00*
Error	9	0.05	0.006		1.02	0.11		0.001	0.0001	

* แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ที่ความเชื่อมั่นร้อยละ 95

จากผลการทดลองเมื่อวิเคราะห์ความแปรปรวนของข้อมูลที่ได้ พบว่า ทั้งความเข้มข้นของสารละลายไซเตียมอัลจินตและสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ มีผลต่อค่าการดูดกลืนแสง ที่ความยาวคลื่น 550 นาโนเมตร แต่ไม่มีผลต่อปริมาณกรดแลคติก และแอลกอฮอล์ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ดังตารางที่ 5.8

เนื่องจากปัจจัยร่วม (AB) มีผลต่อค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 550 นาโนเมตร อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ความเชื่อมั่นร้อยละ 95 การเปรียบเทียบค่าเฉลี่ย ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 550 นาโนเมตรโดยวิธี Duncan's new multiple range test จึงพิจารณาร่วมกันทั้งสองปัจจัย ดังแสดงในตารางที่ 5.7

เมื่อพิจารณาค่าการดูดกลืนแสง ซึ่งมีค่าน้อยกว่าค่าเฉลี่ย (0.157 ± 0.007) พบว่าความเข้มข้นของสารละลายไซเตียมอัลจินตและสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ ที่ควรพิจารณา คือ ร้อยละ 2 กับร้อยละ 3 ร้อยละ 3 กับร้อยละ 2 ร้อยละ 3 กับร้อยละ 3 ร้อยละ 4 กับร้อยละ 2 และ ร้อยละ 4 กับร้อยละ 3 เนื่องจากปริมาณกรดแลคติก และ ปริมาณแอลกอฮอล์ในการทดลองนี้ไม่แตกต่างกัน จึงพิจารณาปริมาณกรดแลคติกและแอลกอฮอล์ที่ มากกว่าค่าเฉลี่ย (1.36 ± 0.05 และ 1.52 ± 0.24 ตามลำดับ) พบว่าความเข้มข้นของ สารละลายไซเตียมอัลจินต และสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ ที่ควรพิจารณา คือ ร้อยละ 3 กับ ร้อยละ 2 และ ร้อยละ 3 กับร้อยละ 3 เนื่องจากสารละลายไซเตียมอัลจินต ความเข้มข้น ร้อยละ 3 กับสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ ความเข้มข้นร้อยละ 2 และสารละลายไซเตียม-อัลจินต ความเข้มข้นร้อยละ 3 กับสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ ความเข้มข้นร้อยละ 3 ให้ ปริมาณแอลกอฮอล์ที่ไม่แตกต่างกัน จึงเลือกใช้สารละลายไซเตียมอัลจินต ความเข้มข้นร้อยละ 3 กับสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ ความเข้มข้นร้อยละ 2 เพราะใช้สารละลายแคลเซียมคลอไรด์ความเข้มข้นต่ำกว่า

สำหรับการห่อหุ้มเซลล์จูลินทรีย์ด้วยเจลแคลเซียมอัลจิเนต Bucke (1987) พบว่า สารละลายโซเดียมอัลจิเนตที่มีความเข้มข้นสูงจะก่อให้เกิดปัญหาด้านความหนืดเวลาใช้งาน เพราะผสมสารแขวนลอยเซลล์ลงไปได้ยาก และทำให้เม็ดเจลที่ได้มีประสิทธิภาพการแพร่ผ่านต่ำ เพราะการมีรูพรุนของเม็ดเจลลดลง นอกจากนี้ Ogbonna, Namao และ Nakamura (1989) ยังพบว่า ความเข้มข้นของสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ ส่งผลกระทบต่อลักษณะเฉพาะในการแพร่ผ่านของเม็ดเจลค่อนข้างน้อย อีกทั้ง ความต้องการปริมาณประจุของแคลเซียม (Ca^{2+}) ในการเกิดเจลค่อนข้างน้อยเช่นกัน เมื่อพิจารณาในแง่ของการแพร่ผ่านของโมเลกุลสปีสเตรต (กลูโคส) และผลิตภัณฑ์ (กรดแลคติกและแอลกอฮอล์) แล้ว Smidsrod และ Skjak-Braek (1990) ได้รายงานไว้ว่าโครงตาข่ายของเจลแคลเซียมอัลจิเนตส่งผลกระทบต่อการแพร่ผ่านของโมเลกุลขนาดเล็กน้อยมาก แต่จะส่งผลอย่างมากต่อโมเลกุลขนาดใหญ่ กล่าวคือ การแพร่ผ่านของกลูโคส กรดแลคติก และแอลกอฮอล์มีค่าสูงถึงร้อยละ 90 ของอัตราการแพร่ผ่านในน้ำ ในขณะที่โมเลกุลขนาดใหญ่ขึ้นเช่น โปรตีนจะเกิดความต้านทานการแพร่ผ่าน (diffusion resistance) จากรายงานดังกล่าวแสดงให้เห็นว่าปัจจัยหลักที่ส่งผลกระทบต่อการตรึงรูปร่างกันของเซลล์จูลินทรีย์ คือ ความเข้มข้นของสารละลายโซเดียมอัลจิเนต ซึ่งผลการทดลองของทั้งสามกรณี ความเข้มข้นของสารละลายโซเดียมอัลจิเนตจึงไม่ต่างกัน เพราะถูกเลือกแล้วว่าสามารถห่อหุ้มเซลล์จูลินทรีย์ทั้งสองชนิดไว้ภายใน โดยมีเซลล์อิสระหลุดออกมาน้อย และเซลล์ที่ถูกห่อหุ้มไว้สามารถสร้างผลิตภัณฑ์ในระดับที่น่าพึงพอใจ

5.3 การศึกษาภาวะที่เหมาะสมในการทำงานของเซลล์จุลินทรีย์ตรึงรูปร่วมกัน

เซลล์จุลินทรีย์ตรึงรูปร่วมกันทำงาน ณ pH 3.0, 4.0, 5.0, 6.0 และ 7.0 และอุณหภูมิ 20, 25, 30, 35, 40, 45 และ 50 องศาเซลเซียส

5.3.1 กรณีที่เลือกสำหรับการหมักเพื่อให้เกิดกรดแลคติก

จากผลการทดลองเมื่อวิเคราะห์ความแปรปรวนของข้อมูลที่ได้ พบว่า ทั้ง pH และอุณหภูมิ มีผลต่อปริมาณกรดแลคติก แอลกอฮอล์ และค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 550 นาโนเมตร อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ดังตารางที่ 5.10

เนื่องจากปัจจัยร่วม (AB) มีผลต่อปริมาณกรดแลคติก แอลกอฮอล์ และค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 550 นาโนเมตร อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ความเชื่อมั่นร้อยละ 95 การเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 550 นาโนเมตร โดยวิธี Duncan's new multiple range test จึงพิจารณาร่วมกันทั้งสองปัจจัย ดังแสดงในตารางที่ 5.9

ตารางที่ 5.9 ปริมาณกรดแลคติก แอลกอฮอล์ และค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 550 นาโนเมตร เมื่อเซลล์จุลินทรีย์ตรึงรูปร่วมกันทำงาน ณ pH และอุณหภูมิต่างๆ สำหรับการหมักเพื่อให้เกิดกรดแลคติก

pH	อุณหภูมิ (องศา เซลเซียส)	ปริมาณกรดแลคติก (มิลลิกรัม/ มิลลิลิตร)	ปริมาณแอลกอฮอล์ (มิลลิกรัม/ มิลลิลิตร)	ค่าการดูดกลืนแสง ที่ 550 นาโนเมตร
3	20	1.05±0.04 ^m	1.01±0.03 ^{fgh}	0.019±0.006 ^{efg}
	25	1.08±0.10 ^m	1.70±0.13 ^{de}	0.041±0.008 ^{defg}
	30	1.16±0.01 ^{klm}	2.11±0.05 ^{ab}	0.094±0.018 ^{cdefg}
	35	1.34±0.02 ^{hi}	2.11±0.03 ^{ab}	0.041±0.007 ^{defg}
	40	1.42±0.10 ^{gh}	0.91±0.11 ^{hi}	0.007±0.002 ^{fg}
	45	0.10±0.02 ^p	0.05±0.00 ^k	0±0.00 ^g
	50	0.02±0.00 ^p	0.29±0.01 ^j	0±0.00 ^g
4	20	1.11±0.02 ^{lm}	1.20±0.05 ^f	0.041±0.012 ^{defg}
	25	1.12±0.09 ^{lm}	2.24±0.12 ^a	0.052±0.011 ^{defg}
	30	1.20±0.13 ^{jkl}	2.27±0.18 ^a	0.102±0.038 ^{bcdefg}
	35	1.17±0.01 ^{klm}	2.10±0.01 ^{ab}	0.054±0.005 ^{defg}
	40	1.30±0.02 ^{ij}	0.81±0.00 ⁱ	0.004±0.001 ^g
	45	0.02±0.00 ^p	0.10±0.01 ^{jk}	0±0.000 ^g
	50	0.02±0.00 ^p	0.16±0.02 ^{jk}	0±0.000 ^g

ตารางที่ 5.9 (ต่อ)

pH	อุณหภูมิ (องศา เซลเซียส)	ปริมาณกรดแลคติก (มิลลิกรัม/ มิลลิลิตร)	ปริมาณแอลกอฮอล์ (มิลลิกรัม/ มิลลิลิตร)	ค่าการดูดกลืนแสง ที่ 550 นาโนเมตร
5	20	1.27±0.02 ^{ijk}	1.14±0.00 ^{fg}	0.125±0.022 ^{bcde}
	25	1.07±0.02 ^m	2.00±0.05 ^{bc}	0.056±0.007 ^{defg}
	30	1.56±0.10 ^{ef}	2.10±0.03 ^{ab}	0.076±0.015 ^{defg}
	35	1.26±0.03 ^{ijk}	1.69±0.04 ^{de}	0.131±0.062 ^{bcd}
	40	1.47±0.01 ^{fg}	0.96±0.01 ^{ghi}	0.293±0.051 ^a
	45	0.27±0.02 ^o	0.15±0.01 ^{jk}	0.002±0.000 ^g
	50	0.02±0.00 ^p	0.23±0.00 ^{jk}	0.001±0.000 ^g
6	20	1.28±0.08 ^{ijk}	1.07±0.02 ^{fgh}	0.200±0.029 ^b
	25	1.23±0.01 ^{ijkl}	1.86±0.22 ^{cd}	0.112±0.023 ^{bcdef}
	30	1.73±0.13 ^{cd}	1.82±0.02 ^{cd}	0.069±0.020 ^{defg}
	35	1.84±0.12 ^{bc}	1.77±0.15 ^{de}	0.190±0.015 ^{bc}
	40	1.23±0.05 ^{ijkl}	0.76±0.00 ⁱ	0.119±0.002 ^{bcde}
	45	0.41±0.01 ^h	0.72±0.01 ^{jk}	0±0.000 ^g
	50	0±0.00 ^p	0.09±0.01 ^{jk}	0±0.000 ^g

ตารางที่ 5.9 (ต่อ)

pH	อุณหภูมิ (องศา เซลเซียส)	ปริมาณกรดแลคติก (มิลลิกรัม/ มิลลิลิตร)	ปริมาณแอลกอฮอล์ (มิลลิกรัม/ มิลลิลิตร)	ค่าการดูดกลืนแสง ที่ 550 นาโนเมตร
7	20	1.32±0.16 ^{hij}	1.15±0.10 ^{fg}	0.108±0.022 ^{fg}
	25	1.47±0.02 ^{fg}	1.60±0.25 ^e	0.130±0.031 ^e
	30	1.92±0.13 ^b	1.75±0.22 ^{de}	0.030±0.022 ^{de}
	35	2.17±0.20 ^a	1.09±0.08 ^{fgh}	0.045±0.009 ^{fgh}
	40	1.65±0.05 ^{de}	1.60±0.06 ^e	0.342±0.020 ^e
	45	0.51±0.00 ⁿ	0.10±0.00 ^{jk}	0.002±0.001 ^g
	50	0.02±0.00 ^p	0.14±0.01 ^{jk}	0.001±0.000 ^g

a,b,c,... ตัวเลขที่มีอักษรต่างกันกำกับ แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ที่ความเชื่อมั่นร้อยละ 95

ตารางที่ 5.10 การวิเคราะห์ความแปรปรวนค่าของกรดแลคติก แอลกอฮอล์ และการดูดกลืนแสง ที่ความยาวคลื่น 550 นาโนเมตร เมื่อเซลล์จลินทรีย์เจริญร่วมกันทำงาน ณ pH และอุณหภูมิต่างๆ สำหรับการหมักเพื่อให้เกิดกรดแลคติก

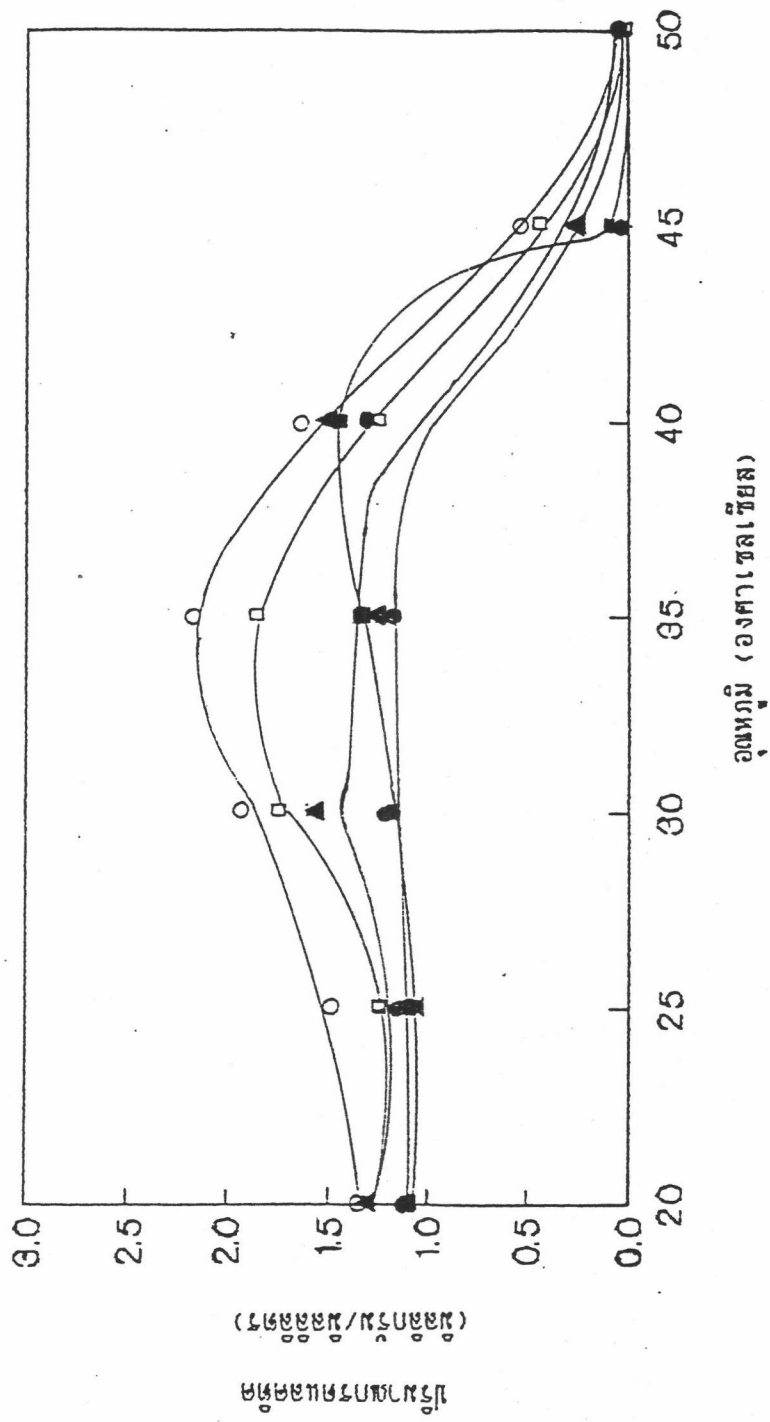
ปัจจัย	df	กรดแลคติก			แอลกอฮอล์			ค่าการดูดกลืนแสง		
		SS.	MS.	ค่า F	SS.	MS.	ค่า F	SS.	MS.	ค่า F
pH (A)	4	1.90	0.48	160.00*	0.81	0.20	25.00*	0.024	0.006	3.00*
อุณหภูมิ (B)	6	23.42	3.90	1300.00*	37.06	6.18	772.50*	0.10	0.02	10.00*
AB	24	1.32	0.06	20.00*	1.63	0.07	8.75*	0.20	0.008	4.00*
Error	35	0.10	0.003		0.28	0.008		0.07	0.002	

* แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ที่ความเชื่อมั่นร้อยละ 95

จากรูปที่ 5.3 พบว่าปริมาณกรดแลคติกมีแนวโน้มมากในช่วงอุณหภูมิ 30-40 องศาเซลเซียส ของทุกๆ pH

เมื่อพิจารณาค่าการดูดกลืนแสง ที่อุณหภูมิ 30-40 องศาเซลเซียส ณ pH ต่างๆ ซึ่งมีค่าน้อยกว่าค่าเฉลี่ย (0.067 ± 0.032) และไม่มีความแตกต่างกัน พบว่า pH และอุณหภูมิที่ควรพิจารณา คือ pH 3 และอุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส pH 3 และอุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส pH 4 และอุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส pH 4 และอุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส pH 7 และอุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส และ pH 7 และอุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส

เมื่อพิจารณาปริมาณกรดแลคติก ณ pH และอุณหภูมิที่ผ่านการคัดเลือก โดยอาศัยค่าการดูดกลืนแสง พบว่าปริมาณกรดแลคติก ณ pH 7 และอุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส มากที่สุดและแตกต่างจากค่าอื่นๆ



รูปที่ 5.3 pH- และ temperature-activity profile ของเอนไซม์จากเชื้อราที่สร้างขึ้นร่วมกัน สำหรับการศึกษาเพื่อให้เกิดการแตกตัวของแป้ง
 เมื่อ ■ คือ pH 3 ● คือ pH 4 ▲ คือ pH 5 □ คือ pH 6 และ ○ คือ pH 7

5.3.2 กรณี que เลือกสำหรับการหมักเพื่อให้เกิดแอลกอฮอล์

จากผลการทดลองเมื่อวิเคราะห์ความแปรปรวนของข้อมูลที่ได้ พบว่า ทั้ง pH และอุณหภูมิ มีผลต่อปริมาณกรดแลคติก แอลกอฮอล์ และค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 550 นาโนเมตร อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ดังตารางที่ 5.12

เนื่องจากปัจจัยร่วม (AB) มีผลต่อปริมาณกรดแลคติก แอลกอฮอล์ และค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 550 นาโนเมตร อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ความเชื่อมั่น ร้อยละ 95 การเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 550 นาโนเมตร โดยวิธี Duncan's new multiple range test จึงพิจารณาร่วมกันทั้งสองปัจจัย ดังแสดงใน ตารางที่ 5.11

ตารางที่ 5.11 ปริมาณกรดแลคติก แอลกอฮอล์ และค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 550 นาโนเมตร เมื่อเซลล์จุลินทรีย์ตรึงรูปร่วมกันทำงาน ณ pH และอุณหภูมิต่างๆ สำหรับการหมักเพื่อให้เกิดแอลกอฮอล์

pH	อุณหภูมิ (องศา เซลเซียส)	ปริมาณกรดแลคติก (มิลลิกรัม/ มิลลิลิตร)	ปริมาณแอลกอฮอล์ (มิลลิกรัม/ มิลลิลิตร)	ค่าการดูดกลืนแสง ที่ 550 นาโนเมตร
3	20	0.74±0.02 ^{fgh}	1.59±0.15 ^c	0.195±0.029 ^b
	25	0.63±0.03 ^{ghij}	2.19±0.31 ^{bc}	0.031±0.011 ^{hij}
	30	0.88±0.09 ^{defg}	2.24±0.22 ^{bc}	0.151±0.030 ^{bcd}
	35	1.07±0.01 ^{cde}	2.18±0.13 ^{bcd}	0.130±0.011 ^{cde}
	40	1.30±0.20 ^{bc}	0.58±0.01 ^{gh}	0.004±0.001 ^j
	45	0.40±0.01 ^j	0.21±0.01 ^{hi}	0.006±0.000 ^j
	50	0.02±0.00 ^k	0.12±0.02 ⁱ	0.002±0.000 ^j

ตารางที่ 5.11 (ต่อ)

pH	อุณหภูมิ (องศา เซลเซียส)	ปริมาณกรดแลคติก (มิลลิกรัม/ มิลลิลิตร)	ปริมาณแอลกอฮอล์ (มิลลิกรัม/ มิลลิลิตร)	ค่าการดูดกลืนแสง ที่ 550 นาโนเมตร
4	20	0.76±0.03 ^{efgh}	2.49±0.26 ^{ab}	0.032±0.006 ^{hij}
	25	0.65±0.05 ^{ghij}	2.48±0.23 ^{ab}	0.089±0.012 ^{efg}
	30	1.02±0.10 ^{cdef}	2.12±0.12 ^{bcd}	0.066±0.020 ^{ghi}
	35	0.87±0.02 ^{defg}	1.93±0.03 ^{cde}	0.128±0.033 ^{cde}
	40	0.91±0.03 ^{defg}	0.84±0.05 ^{fg}	0.049±0.014 ^{ghij}
	45	0.36±0.01 ^j	0.12±0.02 ⁱ	0.004±0.003 ^j
	50	0.08±0.01 ^k	0.19±0.01 ^{hi}	0±0.000 ^j
5	20	0.77±0.00 ^{efgh}	1.04±0.00 ^f	0.041±0.005 ^{ghij}
	25	0.87±0.03 ^{defg}	2.76±0.13 ^a	0.075±0.011 ^{fgh}
	30	1.74±0.26 ^a	2.10±0.23 ^{bcd}	0.118±0.030 ^{def}
	35	1.07±0.12 ^{cde}	1.85±0.05 ^{cde}	0.039±0.017 ^{ghij}
	40	0.76±0.03 ^{efgh}	0.90±0.00 ^{fg}	0.066±0.008 ^{ghi}
	45	0.41±0.04 ^{ij}	0.13±0.01 ⁱ	0±0.000 ^j
	50	0±0.00 ^k	0.26±0.02 ^{hi}	0.002±0.000 ^j

ตารางที่ 5.11 (ต่อ)

pH	อุณหภูมิ (องศา เซลเซียส)	ปริมาณกรดแลคติก (มิลลิกรัม/ มิลลิลิตร)	ปริมาณแอลกอฮอล์ (มิลลิกรัม/ มิลลิลิตร)	ค่าการดูดกลืนแสง ที่ 550 นาโนเมตร
6	20	0.62±0.00ghij	1.10±0.04fg	0.164±0.035a
	25	0.48±0.01ij	2.08±0.26ab	0.021±0.020ij
	30	1.32±0.10ab	1.64±0.12bcd	0.193±0.065b
	35	1.29±0.13ab	1.56±0.10de	0.148±0.022bc
	40	0.83±0.03cd	0.38±0.02gh	0.063±0.002ghij
	45	0.38±0.02j	0.28±0.05i	0.004±0.001j
	50	0.02±0.00k	0.09±0.00i	0±0.000j
7	20	0.71±0.02ghi	0.94±0.02fg	0.273±0.054a
	25	0.42±0.03ij	2.40±0.26ab	0.022±0.009ij
	30	1.56±0.11ab	2.07±0.22bcd	0.188±0.022b
	35	1.47±0.16ab	1.74±0.11de	0.174±0.026bc
	40	1.14±0.08cd	0.58±0.00gh	0.049±0.003ghij
	45	0.39±0.00j	0.02±0.00i	0±0.000j
	50	0.01±0.00k	0.10±0.02i	0±0.000j

a,b,c,... ตัวเลขที่มีอักษรต่างกันกำกับ แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ที่ความเชื่อมั่นร้อยละ 95

ตารางที่ 5.12 การวิเคราะห์ความแปรปรวนค่าของกรดแลคติก แอลกอฮอล์ และการดูดกลืนแสง ที่ความยาวคลื่น 550 นาโนเมตร เมื่อเซลล์จุลินทรีย์เจริญพร้อมกันทำงาน ณ pH และอุณหภูมิต่างๆ สำหรับการหมักเพื่อให้เกิดแอลกอฮอล์

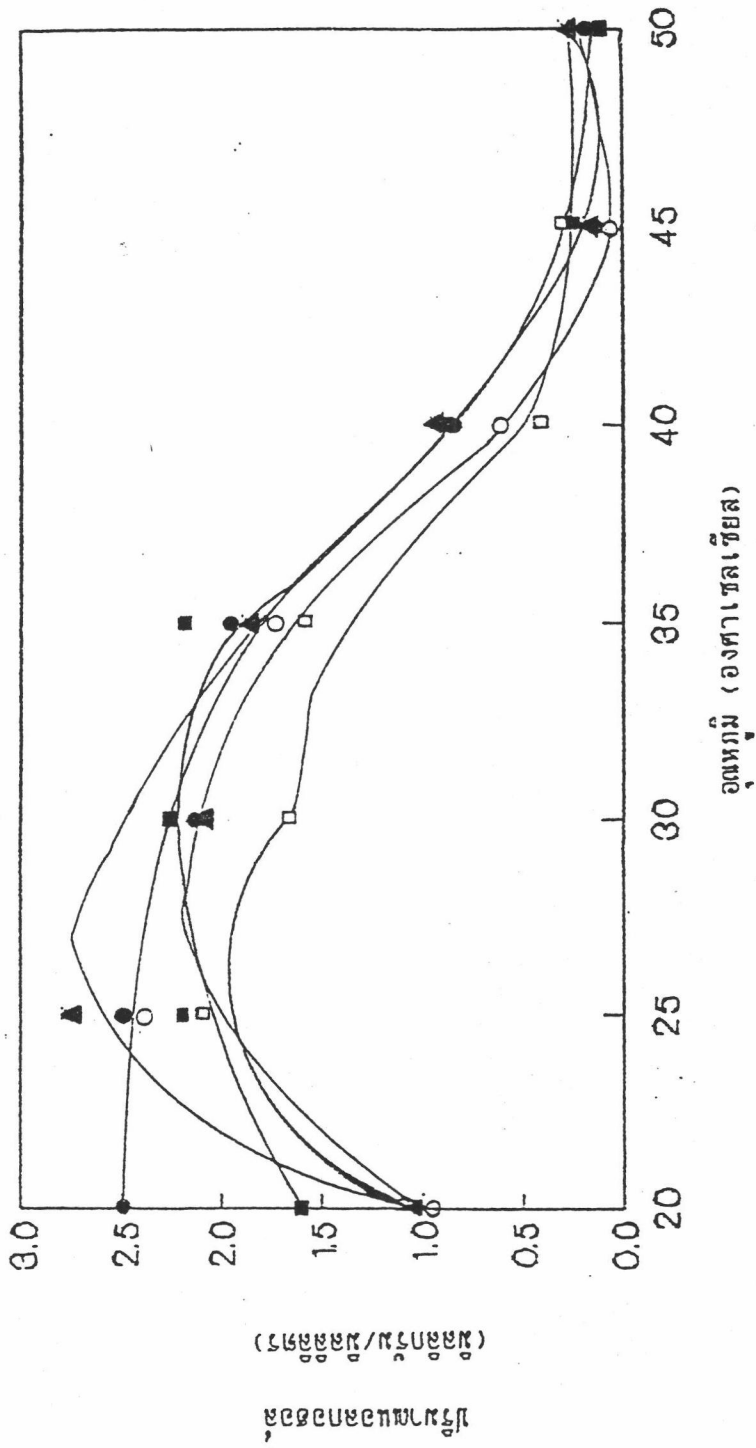
ปัจจัย	df	กรดแลคติก			แอลกอฮอล์			ค่าการดูดกลืนแสง		
		SS.	MS.	ค่า F	SS.	MS.	ค่า F	SS.	MS.	ค่า F
pH (A)	4	0.24	0.06	3.00*	1.16	0.29	7.25*	0.03	0.008	13.33*
อุณหภูมิ (B)	6	12.04	2.01	100.50*	52.45	8.74	218.50*	0.24	0.04	66.67*
AB	24	1.93	0.08	4.00*	3.66	0.15	3.75*	0.11	0.11	8.33*
Error	35	0.60	0.02		1.26	0.04		0.02	0.0006	

* แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ที่ความเชื่อมั่นร้อยละ 95

จากรูปที่ 5.4 พบว่าปริมาณแอลกอฮอล์มีแนวโน้มมากในช่วงอุณหภูมิ 25-35 องศาเซลเซียส ของทุกๆ pH

เมื่อพิจารณาค่าการดูดกลืนแสง ที่อุณหภูมิ 25-35 องศาเซลเซียส ณ pH ต่างๆ ซึ่งมีค่าน้อยกว่าค่าเฉลี่ย (0.072 ± 0.016) และไม่มี ความแตกต่างกัน พบว่า pH และอุณหภูมิที่ควรพิจารณา คือ pH 3 และอุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส pH 4 และอุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส pH 5 และอุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส pH 6 และอุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส และ pH 7 และอุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส

เมื่อพิจารณาปริมาณแอลกอฮอล์ ณ pH และอุณหภูมิที่ผ่านการคัดเลือก โดยอาศัยค่าการดูดกลืนแสง พบว่าปริมาณแอลกอฮอล์ ณ pH 4 และอุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส มากที่สุดและแตกต่างจากค่าอื่นๆ



รูปที่ 5.4 pH- และ temperature-activity profile ของเซลล์จุลินทรีย์ที่ปลูกกัน สำหรับการหมักให้เกิดแอลกอฮอล์
 เมื่อ ■ คือ pH 3 ● คือ pH 4 ▲ คือ pH 5 □ คือ pH 6 และ ○ คือ pH 7

5.2.3 กรณี que เลือกสำหรับการหมักเพื่อให้เกิดกรดแลคติก ร่วมกับการหมักเพื่อให้เกิดแอลกอฮอล์

จากผลการทดลองเมื่อวิเคราะห์ความแปรปรวนของข้อมูลที่ได้ พบว่า ทั้ง pH และอุณหภูมิ มีผลต่อปริมาณกรดแลคติก แอลกอฮอล์ และค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 550 นาโนเมตร อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ดังตารางที่ 5.14

เนื่องจากปัจจัยร่วม (AB) มีผลต่อปริมาณกรดแลคติก แอลกอฮอล์ และค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 550 นาโนเมตร อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ความเชื่อมั่นร้อยละ 95 การเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 550 นาโนเมตร โดยวิธี Duncan's new multiple range test จึงพิจารณาว่าทั้งที่สองปัจจัย ดังแสดงในตารางที่ 5.13

ตารางที่ 5.13 ปริมาณกรดแลคติก แอลกอฮอล์ และค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 550 นาโนเมตร เมื่อเซลล์จุลินทรีย์ตรึงรูปร่วมกันทำงาน ณ pH และอุณหภูมิต่างๆ สำหรับการหมักเพื่อให้เกิดกรดแลคติก ร่วมกับการหมักเพื่อให้เกิดแอลกอฮอล์

pH	อุณหภูมิ (องศา เซลเซียส)	ปริมาณกรดแลคติก (มิลลิกรัม/ มิลลิลิตร)	ปริมาณแอลกอฮอล์ (มิลลิกรัม/ มิลลิลิตร)	ค่าการดูดกลืนแสง ที่ 550 นาโนเมตร
3	20	0.72±0.04 ^{hijk}	1.95±0.13 ^{cde}	0.024±0.005 ^{fghij}
	25	0.90±0.05 ^{ghij}	1.94±0.18 ^{cde}	0.012±0.008 ^{hij}
	30	1.09±0.12 ^{efgh}	2.34±0.20 ^{abc}	0.060±0.000 ^{de}
	35	1.23±0.07 ^{defg}	2.40±0.15 ^{ab}	0.008±0.000 ^{ij}
	40	0.51±0.00 ^{ijkl}	1.17±0.05 ^{fg}	0.004±0.001 ^j
	45	0.35±0.06 ^{kl}	0.21±0.02 ^h	0.001±0.000 ^j
	50	0.04±0.02 ^l	0.08±0.00 ^h	0.001±0.000 ^j

ตารางที่ 5.13 (ต่อ)

pH	อุณหภูมิ (องศา เซลเซียส)	ปริมาณกรดแลคติก (มิลลิกรัม/ มิลลิลิตร)	ปริมาณแอลกอฮอล์ (มิลลิกรัม/ มิลลิลิตร)	ค่าการดูดกลืนแสง ที่ 550 นาโนเมตร
4	20	0.98±0.02 ^{fghi}	2.00±0.22 ^{bcde}	0.015±0.001 ^{ghij}
	25	0.99±0.02 ^{fghi}	2.14±0.36 ^{abcd}	0.016±0.006 ^{ghij}
	30	1.22±0.16 ^{defgh}	2.44±0.12 ^a	0.070±0.024 ^d
	35	0.71±0.05 ^{hijk}	2.48±0.20 ^a	0.007±0.002 ^{ij}
	40	0.91±0.03 ^{ghij}	0.80±0.01 ^g	0.042±0.014 ^{defgh}
	45	0.36±0.03 ^{kl}	0.36±0.02 ^h	0.002±0.000 ^j
	50	0.03±0.00 ⁱ	0.21±0.00 ^h	0±0.000 ^j
5	20	1.06±0.01 ^{efgh}	0.86±0.03 ^{fg}	0.047±0.001 ^{defg}
	25	1.13±0.08 ^{efgh}	1.87±0.16 ^{de}	0.064±0.018 ^d
	30	1.72±0.12 ^{abc}	2.09±0.12 ^{abcd}	0.126±0.029 ^{bc}
	35	1.40±0.09 ^{cdef}	2.14±0.28 ^{abcd}	0.046±0.008 ^{defg}
	40	1.39±0.06 ^{defg}	1.02±0.02 ^{fg}	0.062±0.007 ^d
	45	0.34±0.04 ^{kl}	0.41±0.00 ^h	0.001±0.000 ^j
	50	0.02±0.00 ^l	0.10±0.01 ^h	0.001±0.000 ^j

ตารางที่ 5.13 (ต่อ)

pH	อุณหภูมิ (องศา เซลเซียส)	ปริมาณกรดแลคติก (มิลลิกรัม/ มิลลิลิตร)	ปริมาณแอลกอฮอล์ (มิลลิกรัม/ มิลลิลิตร)	ค่าการดูดกลืนแสง ที่ 550 นาโนเมตร
6	20	1.00±0.07 ^{efghi}	1.08±0.06 ^{fg}	0.039±0.011 ^{defghi}
	25	1.12±0.09 ^{efgh}	1.65±0.05 ^e	0.025±0.010 ^{fghij}
	30	1.88±0.15 ^{ab}	2.11±0.26 ^{abcd}	0.029±0.011 ^{efghij}
	35	1.65±0.02 ^{bcd}	2.18±0.32 ^{abcd}	0.154±0.024 ^{ab}
	40	1.48±0.13 ^{bcde}	1.24±0.05 ^{fg}	0.055±0.010 ^{def}
	45	0.44±0.00 ^{ijkl}	1.63±0.15 ^h	0±0.000 ^j
	50	0±0.00 ^l	0.27±0.01 ^h	0±0.000 ^j
7	20	1.34±0.10 ^{defg}	1.25±0.12 ^f	0.163±0.022 ^a
	25	1.57±0.16 ^{bcd}	1.66±0.13 ^e	0.100±0.016 ^c
	30	2.15±0.23 ^a	1.67±0.08 ^e	0.012±0.001 ^{hij}
	35	1.67±0.17 ^{abcd}	1.19±0.07 ^{fg}	0.006±0.003 ^{ij}
	40	1.69±0.09 ^{abcd}	1.19±0.01 ^{fg}	0.023±0.009 ^{fghij}
	45	0.49±0.01 ^{ijkl}	0.28±0.01 ^h	0.001±0.000 ^j
	50	0.02±0.01 ^l	0.09±0.00 ^h	0.001±0.000 ^j

a,b,c,... ตัวเลขที่มีอักษรต่างกันกำกับ แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ที่ความเชื่อมั่นร้อยละ 95

ตารางที่ 5.14 การวิเคราะห์ความแปรปรวนค่าของกรดแลคติก แอลกอฮอล์ และการดูดกลืนแสง ที่ความยาวคลื่น 550 นาโนเมตร
 เมื่อเซลล์จุลินทรีย์เจริญร่วมกันทำงาน ณ pH และอุณหภูมิต่างๆ สำหรับการทำงานที่ก่อให้เกิดกรดแลคติก ร่วมกับการทำงานที่
 เพื่อให้เกิดแอลกอฮอล์

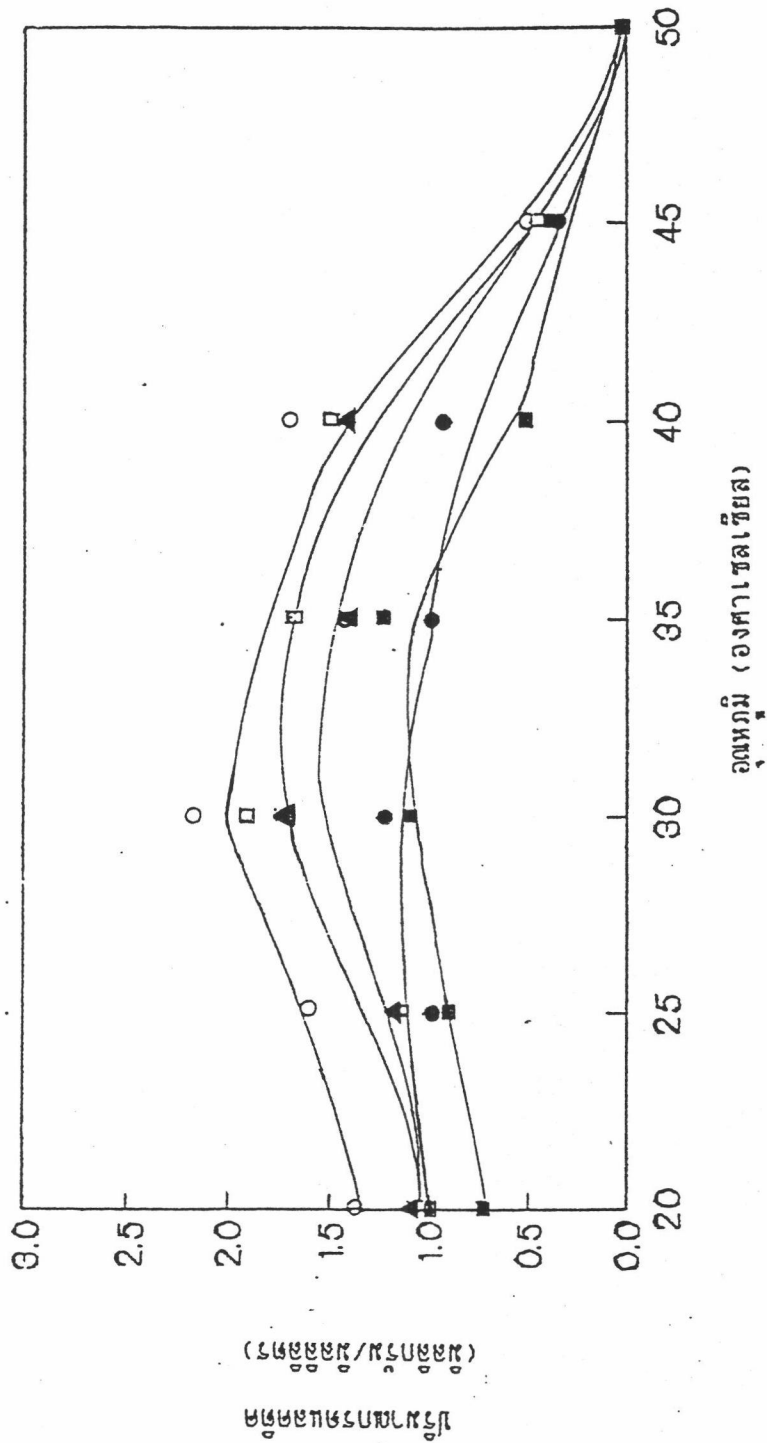
ปัจจัย	df	กรดแลคติก			แอลกอฮอล์			ค่าการดูดกลืนแสง		
		SS.	MS.	ค่า F	SS.	MS.	ค่า F	SS.	MS.	ค่า F
pH (A)	4	0.32	0.83	166.00*	1.88	0.47	11.75*	0.01	0.002	10.00*
อุณหภูมิ (B)	6	18.62	3.10	620.00*	40.19	6.70	167.59*	0.04	0.007	35.00*
AB	24	2.33	0.10	20.00*	3.84	0.16	4.00*	0.08	0.003	15.00*
Error	35	0.17	0.005		1.24	0.04		0.008	0.0002	

* แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ที่ความเชื่อมั่นร้อยละ 95

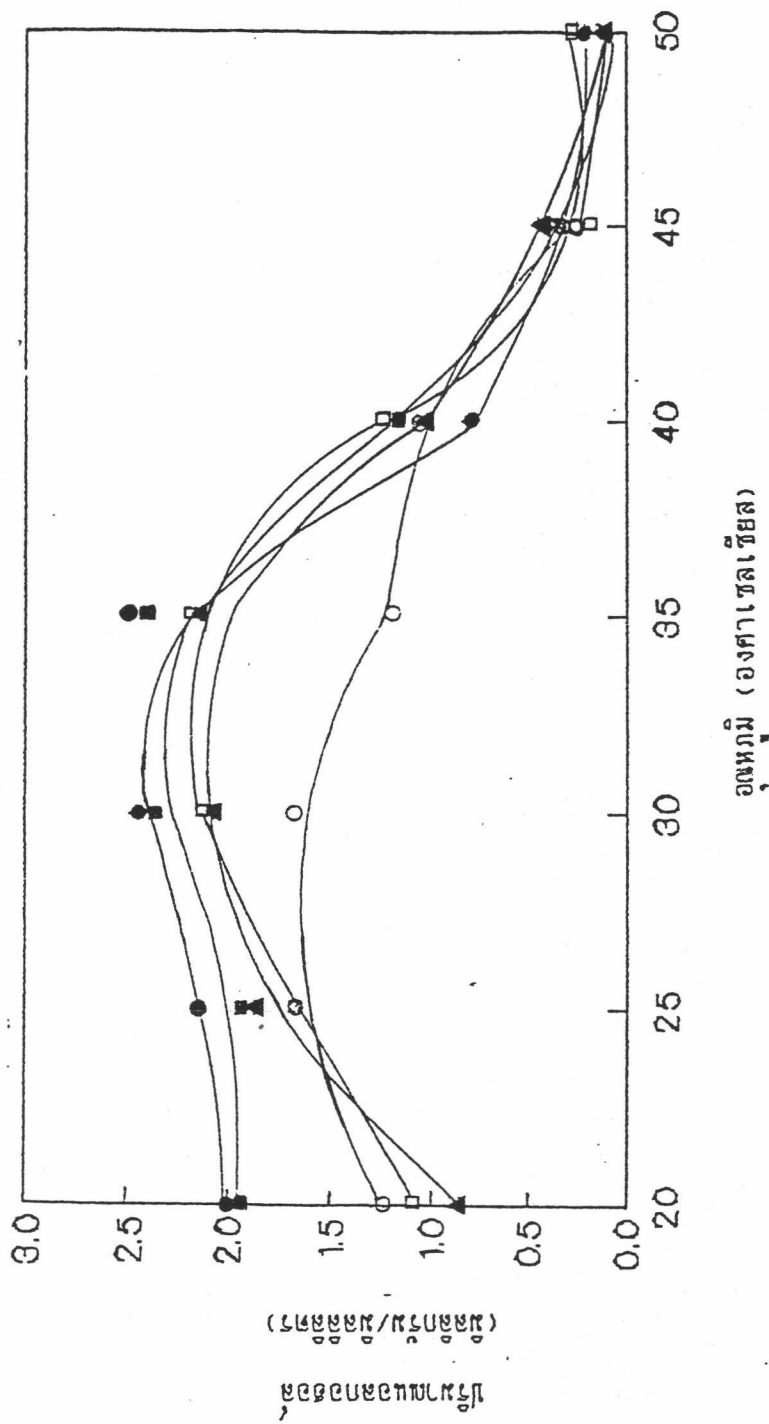
จากรูปที่ 5.5 พบว่าปริมาณกรดแลคติกมีแนวโน้มมากขึ้นช่วงอุณหภูมิ 25-40 องศาเซลเซียส ของทุกๆ pH และจากรูปที่ 5.6 พบว่าปริมาณแอลกอฮอล์มีแนวโน้มมากขึ้นช่วงอุณหภูมิ 25-35 องศาเซลเซียส ของทุกๆ pH ดังนั้นจึงพิจารณาในช่วงอุณหภูมิ 25-35 องศาเซลเซียส ของทุกๆ pH

เมื่อพิจารณาค่าการดูดกลืนแสง ที่อุณหภูมิ 25-35 องศาเซลเซียส ณ pH ต่างๆ ซึ่งมีค่าน้อยกว่าค่าเฉลี่ย (0.035 ± 0.010) และไม่มีความแตกต่างกัน พบว่า pH และอุณหภูมิที่ควรพิจารณา คือ pH 3 และอุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส pH 3 และอุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส pH 4 และอุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส pH 4 และอุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส pH 6 และอุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส pH 6 และอุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส pH 7 และอุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส และ pH 7 และอุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส

เมื่อพิจารณาปริมาณกรดแลคติกและแอลกอฮอล์ ณ pH และอุณหภูมิที่ผ่านการคัดเลือกโดยอาศัยค่าการดูดกลืนแสง พบว่าปริมาณกรดแลคติกและแอลกอฮอล์ ณ pH 6 และอุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส มากที่สุดและแตกต่างจากค่าอื่นๆ



รูปที่ 5.5 pH- และ temperature-activity profile ของเชื้อจุลินทรีย์ตัวนี้ร่วมกัน การผลิตตามผลผลิตการดแลคดีค สำหรับการผลิตเพื่อให้เกิดกรดแลคติกและการหมักเพื่อให้เกิดแอลกอฮอล์ เมื่อ ▲ คือ pH 5 □ คือ pH 6 และ ○ คือ pH 7 ■ คือ pH 3 ● คือ pH 4



รูปที่ 5.6 pH- และ temperature-activity profile ของเซลล์อินทรีย์ที่ปรับปรุงร่วมกัน การติดตามผลผลิตแอลกอฮอล์ สำหรับการหมักเพื่อให้เกิดกรดแลคติกและการหมักเพื่อให้เกิดแอลกอฮอล์ เมื่อ ▲ คือ pH 5 □ คือ pH 6 และ ○ คือ pH 7 ■ คือ pH 3 ● คือ pH 4 □ คือ pH 3 ● คือ pH 4

ในการทดลองหมักน้ำชีวีวแบบไม่ต่อเนื่องของ Yong และ Wood (1976) โดยาใช้เชื้อบริสุทธิ์ของ *L. delbrueckii* และ *S. rouxii* พบว่า pH เริ่มต้นของสารละลายสำหรับหมักคือ 6.55 ทำให้จำนวนเซลล์ที่มีชีวิตของ *L. delbrueckii* เพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็ว และเมื่อ pH ของสารละลายสำหรับหมักลดลงเหลือ 4.5 จำนวนเซลล์ที่มีชีวิตของ *S. rouxii* เพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็ว ซึ่งผลของงานวิจัยนี้สอดคล้องกับผลการหาภาวะที่เหมาะสมในการทำงานของเซลล์จุลินทรีย์ตรึงรูปร่างร่วมกัน สำหรับการหมักเพื่อให้เกิดกรดแลคติก และการหมักเพื่อให้เกิดแอลกอฮอล์ ซึ่งได้ pH ที่เหมาะสม 7.0 และ 4.0 ตามลำดับ สำหรับการหมักเพื่อให้เกิดกรดแลคติกร่วมกับการหมักเพื่อให้เกิดแอลกอฮอล์ซึ่งได้ pH ที่เหมาะสมในการทำงานของเซลล์จุลินทรีย์ตรึงรูปร่างร่วมกันเท่ากับ 6.0 นั้น เป็นไปตามเกณฑ์การพิจารณาเลือก pH ที่ต้องเหมาะสมต่อการทำงานของทั้ง *L. delbrueckii* และ *S. rouxii* คือ เป็น pH ที่อยู่ในช่วง 4.0-7.0

อุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของ *L. delbrueckii* คือ 40 องศาเซลเซียส (Buchanan and Gibbons, 1975) และของ *S. rouxii* คือ 25-30 องศาเซลเซียส (Kraeger-van Rij, 1984) ซึ่งผลการทดลองที่ได้มีความใกล้เคียงกับรายงานดังกล่าวข้างต้น กล่าวคือ ในการหมักเพื่อให้เกิดกรดแลคติกมีอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการทำงาน of เซลล์จุลินทรีย์ตรึงรูปร่างร่วมกัน 35 องศาเซลเซียส ในการหมักเพื่อให้เกิดแอลกอฮอล์มีอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการทำงาน of เซลล์จุลินทรีย์ตรึงรูปร่างร่วมกัน 30 องศาเซลเซียส ในการหมักเพื่อให้เกิดกรดแลคติก ร่วมกับการหมักเพื่อให้เกิดแอลกอฮอล์มีอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการทำงาน of เซลล์จุลินทรีย์ตรึงรูปร่างร่วมกัน 30 องศาเซลเซียส

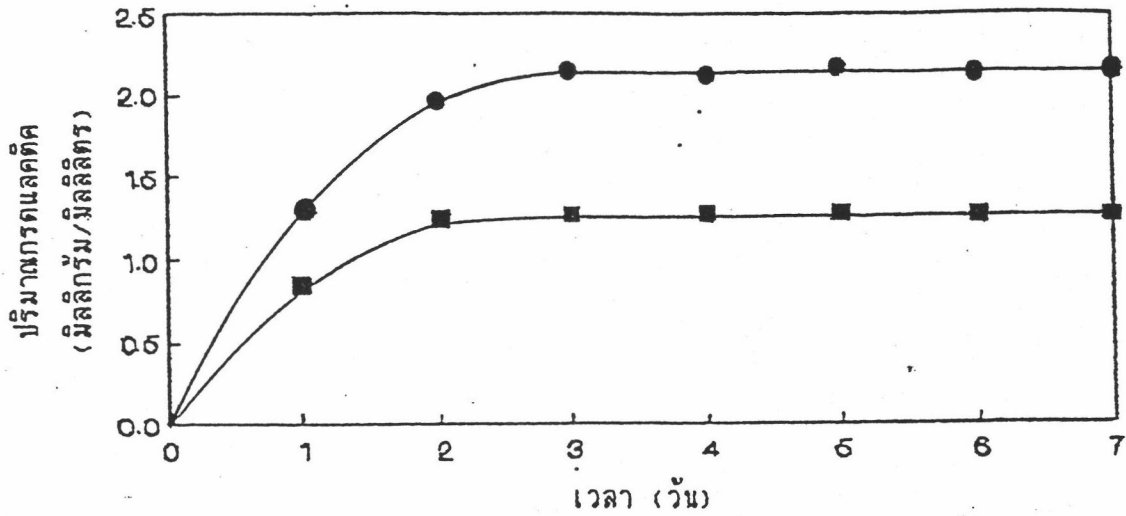
5.4 การเปรียบเทียบประสิทธิภาพในการทำงานระหว่างเซลล์จุลินทรีย์ตรึงรูปร่วมกัน และเซลล์จุลินทรีย์อิสระ

5.4.1 กรณีที่เลือกสำหรับการหมักเพื่อให้เกิดกรดแลคติก

จากผลการทดลองดังตารางที่ 5.15 และรูปที่ 5.7 และ 5.8 เซลล์จุลินทรีย์ตรึงรูปร่วมกันแสดงแอกติวิตีในการหมักกรดแลคติก 2.16 มิลลิกรัม/มิลลิลิตรของอาหารเลี้ยงเชื้อเหลว YM ซึ่งสูงกว่าเซลล์อิสระภายใต้ภาวะการหมักเดียวกัน

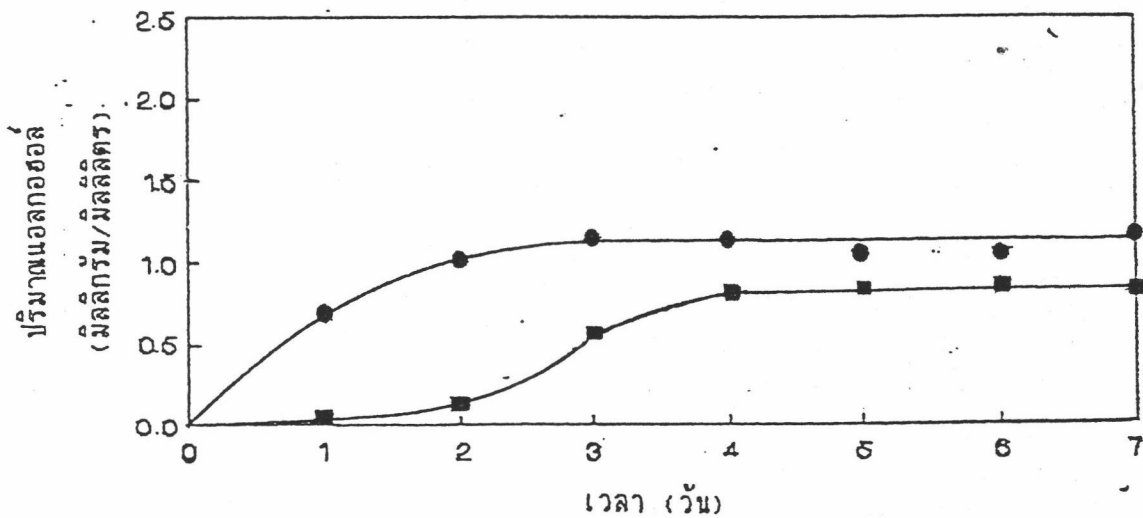
ตารางที่ 5.15 การเปรียบเทียบผลผลิตกรดแลคติก และแอลกอฮอล์ ระหว่างเซลล์จุลินทรีย์ตรึงรูปร่วมกัน และเซลล์จุลินทรีย์อิสระ สำหรับการหมักเพื่อให้เกิดกรดแลคติก

วันที่	เซลล์จุลินทรีย์อิสระ		เซลล์จุลินทรีย์ตรึงรูปร่วมกัน	
	ปริมาณกรดแลคติก (มิลลิกรัม/มิลลิลิตร)	ปริมาณแอลกอฮอล์ (มิลลิกรัม/มิลลิลิตร)	ปริมาณกรดแลคติก (มิลลิกรัม/มิลลิลิตร)	ปริมาณแอลกอฮอล์ (มิลลิกรัม/มิลลิลิตร)
1	0.83±0.02	0	1.33±0.01	0.69±0.02
2	1.27±0.03	0.12±0.01	1.98±0.00	1.04±0.04
3	1.25±0.01	0.58±0.12	2.16±0.08	1.16±0.07
4	1.25±0.01	0.81±0.07	2.13±0.11	1.16±0.07
5	1.26±0.03	0.81±0.05	2.16±0.05	1.04±0.02
6	1.23±0.05	0.81±0.01	2.12±0.04	1.04±0.02
7	1.24±0.05	0.80±0.02	2.15±0.07	1.15±0.05



● คือ เซลล์จุลินทรีย์ทรงรูปร่างกัน และ ■ คือ เซลล์จุลินทรีย์อัสระ

รูปที่ 5.7 การเปรียบเทียบผลผลิตกรดแลคติก ระหว่างเซลล์จุลินทรีย์ทรงรูปร่างกัน และเซลล์จุลินทรีย์อัสระ ในกรณีที่เลือกสำหรับการหมักเพื่อให้เกิดกรดแลคติก



● คือ เซลล์จุลินทรีย์ทรงรูปร่างกัน และ ■ คือ เซลล์จุลินทรีย์อัสระ

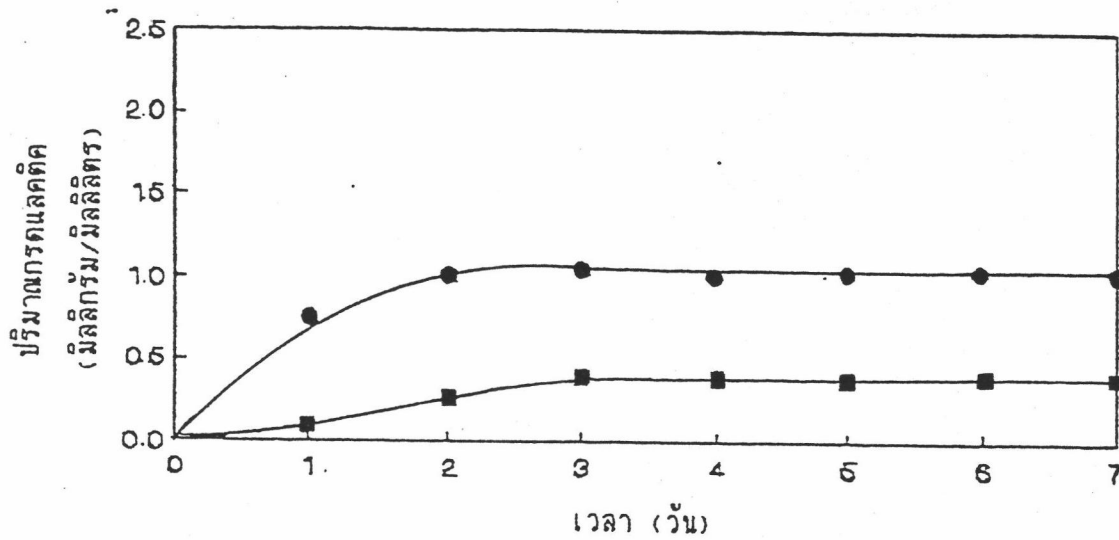
รูปที่ 5.8 การเปรียบเทียบผลผลิตแอลกอฮอล์ ระหว่างเซลล์จุลินทรีย์ทรงรูปร่างกัน และเซลล์จุลินทรีย์อัสระ ในกรณีที่เลือกสำหรับการหมักเพื่อให้เกิดกรดแลคติก

5.4.2 กรณี que เลือกสำหรับการหมักเพื่อให้เกิดแอลกอฮอล์

จากผลการทดลองดังตารางที่ 5.16 และรูปที่ 5.9 และ 5.10 เซลล์ จุลินทรีย์ตรึงรูปร่วมกันแสดงแอดติวิตีในการหมักแอลกอฮอล์ 2.20 มิลลิกรัม/มิลลิลิตรของอาหาร เลี้ยงเชื้อเหลว YM ซึ่งสูงกว่าเซลล์อิสระภายใต้ภาวะการหมักเดียวกัน

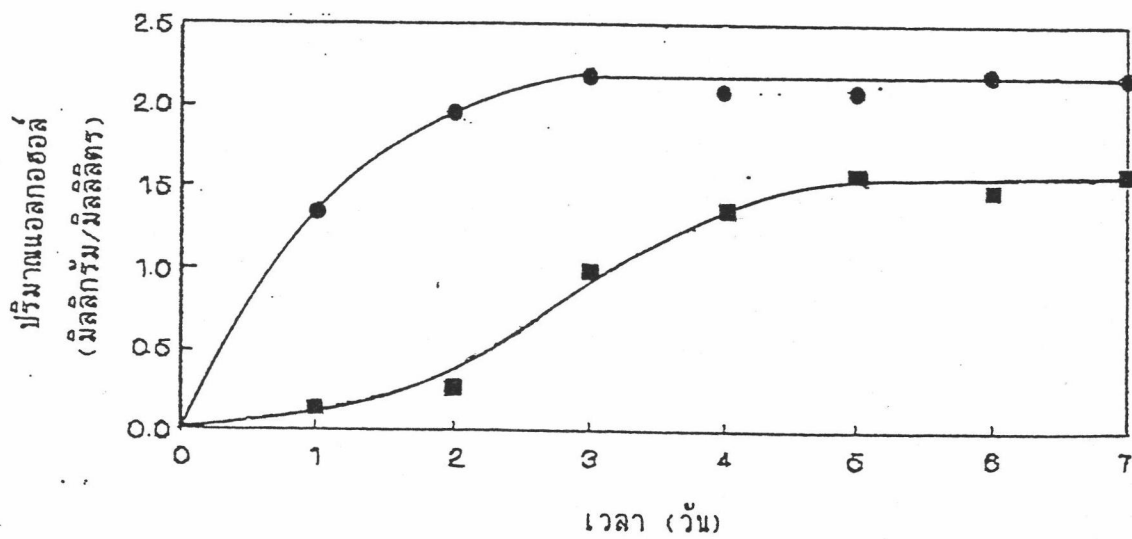
ตารางที่ 5.16 การเปรียบเทียบผลผลิตกรดแลคติกและแอลกอฮอล์ ระหว่างเซลล์จุลินทรีย์ตรึงรูป ร่วมกัน และ เซลล์จุลินทรีย์อิสระ สำหรับการหมักเพื่อให้เกิดแอลกอฮอล์

วันที่	เซลล์จุลินทรีย์อิสระ		เซลล์จุลินทรีย์ตรึงรูปร่วมกัน	
	ปริมาณกรดแลคติก (มิลลิกรัม/มิลลิลิตร)	ปริมาณแอลกอฮอล์ (มิลลิกรัม/มิลลิลิตร)	ปริมาณกรดแลคติก (มิลลิกรัม/มิลลิลิตร)	ปริมาณแอลกอฮอล์ (มิลลิกรัม/มิลลิลิตร)
1	0.07±0.03	0.12±0.02	0.75±0.03	1.35±0.10
2	0.26±0.02	0.25±0.06	1.01±0.07	1.96±0.09
3	0.41±0.02	0.98±0.13	1.03±0.01	2.20±0.15
4	0.40±0.00	1.35±0.08	1.00±0.03	2.08±0.10
5	0.37±0.03	1.59±0.08	1.02±0.06	1.96±0.12
6	0.39±0.01	1.47±0.10	1.01±0.02	2.20±0.09
7	0.40±0.06	1.59±0.05	1.03±0.01	2.20±0.06



● คือ เซลล์จุลินทรีย์ตรังรูปร่วมกัน และ ■ คือ เซลล์จุลินทรีย์อีสาร

รูปที่ 5.9 การเปรียบเทียบผลผลิตกรดแลคติก ระหว่างเซลล์จุลินทรีย์ตรังรูปร่วมกัน และเซลล์จุลินทรีย์อีสาร ในกรณีที่เลือกสำหรับการหมักเพื่อให้เกิดแอลกอฮอล์



● คือ เซลล์จุลินทรีย์ตรังรูปร่วมกัน และ ■ คือ เซลล์จุลินทรีย์อีสาร

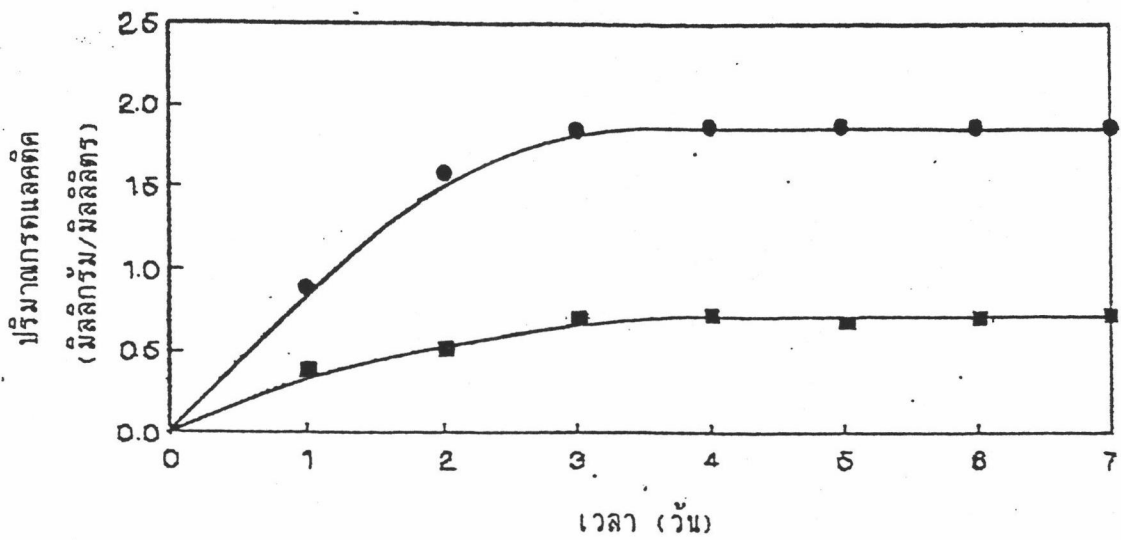
รูปที่ 5.10 การเปรียบเทียบผลผลิตแอลกอฮอล์ ระหว่างเซลล์จุลินทรีย์ตรังรูปร่วมกัน และเซลล์จุลินทรีย์อีสาร ในกรณีที่เลือกสำหรับการหมักเพื่อให้เกิดแอลกอฮอล์

5.4.3 กรณีที่ได้เลือกสำหรับการหมักเพื่อให้เกิดกรดแลคติก ร่วมกับการหมักเพื่อให้เกิดแอลกอฮอล์

จากผลการทดลองดังตารางที่ 5.17 และรูปที่ 5.11 และ 5.12 เซลล์ จุลินทรีย์ที่จริงรูปร่วมกันแสดงแอกติวิตีในการหมักกรดแลคติกและแอลกอฮอล์ 1.87 และ 2.13 มิลลิกรัม/มิลลิลิตรของอาหารเลี้ยงเชื้อเหลว YM ซึ่งสูงกว่าเซลล์อิสระภายใต้ภาวะการหมักเดียวกัน

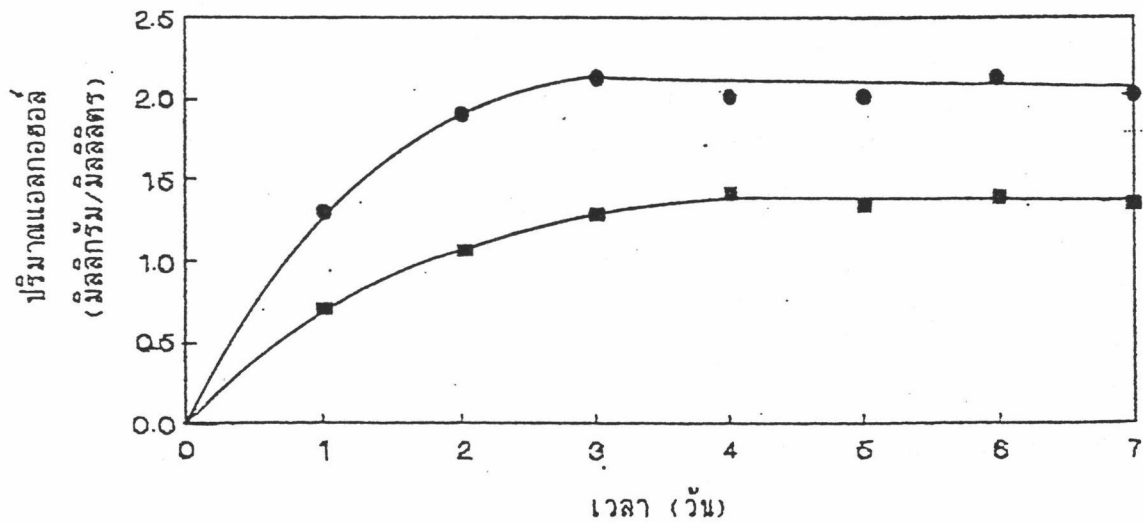
ตารางที่ 5.17 การเปรียบเทียบผลผลิตกรดแลคติก และแอลกอฮอล์ระหว่างเซลล์จุลินทรีย์ที่จริงรูปร่วมกัน และเซลล์จุลินทรีย์อิสระ สำหรับการหมักเพื่อให้เกิดกรดแลคติก ร่วมกับการหมักเพื่อให้เกิดแอลกอฮอล์

วันที่	เซลล์จุลินทรีย์อิสระ		เซลล์จุลินทรีย์ที่จริงรูปร่วมกัน	
	ปริมาณกรดแลคติก (มิลลิกรัม/มิลลิลิตร)	ปริมาณแอลกอฮอล์ (มิลลิกรัม/มิลลิลิตร)	ปริมาณกรดแลคติก (มิลลิกรัม/มิลลิลิตร)	ปริมาณแอลกอฮอล์ (มิลลิกรัม/มิลลิลิตร)
1	0.39±0.07	0.71±0.05	0.89±0.02	1.30±0.04
2	0.50±0.06	1.07±0.02	1.60±0.08	1.90±0.02
3	0.70±0.01	1.31±0.06	1.87±0.10	2.13±0.05
4	0.72±0.09	1.42±0.03	1.87±0.07	2.02±0.02
5	0.68±0.04	1.34±0.03	1.86±0.08	1.90±0.06
6	0.71±0.04	1.41±0.01	1.87±0.05	2.13±0.06
7	0.71±0.03	1.34±0.01	1.86±0.05	2.02±0.05



● คือ เชลล์จุลินทรีย์ตรึงรูปพร้อมกัน และ ■ คือ เชลล์จุลินทรีย์อ่อน

รูปที่ 5.11 การเปรียบเทียบผลผลิตกรดแลคติก ระหว่างเชลล์จุลินทรีย์ตรึงรูปพร้อมกัน และเชลล์จุลินทรีย์อ่อน ในกรณีที่เลือกสำหรับการหมักเพื่อให้เกิดกรดแลคติก ร่วมกับการหมักเพื่อให้เกิดแอลกอฮอล์



● คือ เชลล์จุลินทรีย์ตรึงรูปพร้อมกัน และ ■ คือ เชลล์จุลินทรีย์อ่อน

รูปที่ 5.12 การเปรียบเทียบผลผลิตแอลกอฮอล์ ระหว่างเชลล์จุลินทรีย์ตรึงรูปพร้อมกัน และเชลล์จุลินทรีย์อ่อน ในกรณีที่เลือกสำหรับการหมักเพื่อให้เกิดกรดแลคติก ร่วมกับการหมักเพื่อให้เกิดแอลกอฮอล์

โดยทั่วไป จุลินทรีย์อิสระเมื่อมีการเจริญเติบโตในช่วง log phase จำนวนจุลินทรีย์จะเริ่มคงที่เพราะจำนวนจุลินทรีย์ที่เกิดขึ้นเท่ากับจำนวนจุลินทรีย์ที่ตาย สาเหตุมาจากสารอาหารลดน้อยลง และการสะสมของผลิตภัณฑ์ที่กลับไปทำร้ายเซลล์ (Tortola, Funke, and Case, 1992) เช่นเดียวกับผลการทดลองที่เกิดขึ้น เมื่อเพาะเลี้ยงจุลินทรีย์อิสระในอาหารเลี้ยงเชื้อเหลวภายใต้อุณหภูมิและ pH เดียวกันกับที่ใช้เพาะเลี้ยงเซลล์จุลินทรีย์ตรึงรูปร่วมกัน ผลิตภัณฑ์ที่เกิดขึ้นจากเมตาบอลิซึมของจุลินทรีย์อิสระได้ส่งผลให้เซลล์จุลินทรีย์อิสระไม่สามารถเจริญเติบโตต่อไปได้ เพราะเซลล์ที่แขวนลอยอยู่ในอาหารเหลวสัมผัสกับผลิตภัณฑ์โดยตรง นอกจากนี้ในการทดลองหมักน้ำชีว่ในช่วงโมโรมิของ Yong และ Wood (1976) ยังให้ผลเช่นเดียวกันกล่าวคือ เมื่อเพาะ *L. delbrueckii* อิสระลงในสารละลายสำหรับหมัก *L. delbrueckii* สร้างกรดแลคติกจนทำให้ pH ลดลงจนถึง 4.5 จากนั้นจำนวนเซลล์ที่มีชีวิตของ *L. delbrueckii* จะลดลงอย่างรวดเร็ว ซึ่ง Yong และ Wood ให้เหตุผลว่าเป็นเพราะการสะสมของผลิตภัณฑ์กรดจากกระบวนการเมตาบอลิซึมของแบคทีเรีย ในขณะที่การลดลงของ *S. rouxii* ที่มีชีวิตในสารละลายสำหรับหมักเป็นเพราะปริมาณแอลกอฮอล์ที่เพิ่มขึ้น ในขณะที่เซลล์ตรึงรูปถูกห่อหุ้มไว้ในช่วงตาข่ายของเจลแคลเซียมอัลจิเนต จึงทำให้เซลล์ไม่ต้องสัมผัสกับผลิตภัณฑ์ตลอดเวลา ทั้งนี้เป็นไปตามหลักการแพร่ผ่าน คือ สารต่างๆ (กรดแลคติกและแอลกอฮอล์) จะแพร่จากบริเวณที่มีความเข้มข้นสูง (ในเม็ดเจล) ไปสู่บริเวณที่มีความเข้มข้นต่ำกว่า (สารละลายภายนอกเม็ดเจล) (Tortora, Fuke, and Case, 1992) เซลล์ตรึงรูปร่วมกันจึงมีโอกาสสัมผัสกับสารเคมีได้มากกว่า และเกิดเป็นผลิตภัณฑ์ได้มากกว่าเซลล์อิสระ นอกจากนี้ ผลการเปรียบเทียบประสิทธิภาพในการทำงานระหว่างเซลล์จุลินทรีย์ตรึงรูปร่วมกันในเจลแคลเซียมอัลจิเนตกับเซลล์จุลินทรีย์อิสระยังสอดคล้องกับผลการทดลองของเพ็ญศิริและปราณี (2536) โดย *L. delbrueckii* และ *Z. rouxii* ซึ่งถูกตรึงรูปในแคปซูลเล็กสามารถสร้างกรดแลคติกและแอลกอฮอล์ได้มากกว่าเซลล์อิสระภายใต้ภาวะการบ่มเดียวกัน

5.5 ศึกษาประสิทธิภาพการห่อหุ้มเซลล์จุลินทรีย์ของเจลแคลเซียมอัลจิเนตก่อนนำไปใช้งาน

5.5.1 การนับจำนวนเซลล์ที่มีชีวิตของเจลแคลเซียมอัลจิเนต

จำนวนเซลล์ที่มีชีวิตของ L. delbrueckii และ S. rouxii ในเจลแคลเซียมอัลจิเนตก่อนนำไปใช้งานแสดงดังตารางที่ 5.18

ตารางที่ 5.18 จำนวนเซลล์ที่มีชีวิตของ Lactobacillus delbrueckii และ Saccharomyces rouxii ในเจลแคลเซียมอัลจิเนต สำหรับกรณีต่างๆ

กรณี	ปริมาณเซลล์ <u>L. delbrueckii</u> (เซลล์/กรัมเจล)	ปริมาณเซลล์ <u>S. rouxii</u> (เซลล์/กรัมเจล)
การห่อหุ้มเพื่อให้เกิดกรดแลคติก	6.57×10^5	2.94×10^5
การห่อหุ้มเพื่อให้เกิดแอลกอฮอล์	0.64×10^6	4.05×10^6
การห่อหุ้มเพื่อให้เกิดกรดแลคติก รวมกับการห่อหุ้มเพื่อให้เกิด แอลกอฮอล์	2.34×10^5	1.96×10^5

จากจำนวนจุลินทรีย์เริ่มต้นในเจลแคลเซียมอัลจิเนตแสดงให้เห็นว่า เมื่อจุลินทรีย์ชนิดใดมีจำนวนเซลล์มากกว่าอีกชนิดอย่างเห็นได้ชัด จุลินทรีย์ชนิดนั้นย่อมมีโอกาสเจริญเติบโตและผลิตผลิตภัณฑ์ได้มากกว่าดังแสดงให้เห็นในกรณีการห่อหุ้มเพื่อให้เกิดกรดแลคติก และกรณีการห่อหุ้มเพื่อให้เกิดแอลกอฮอล์ ส่วนในกรณีการห่อหุ้มเพื่อให้เกิดกรดแลคติกรวมกับการห่อหุ้มเพื่อให้เกิด

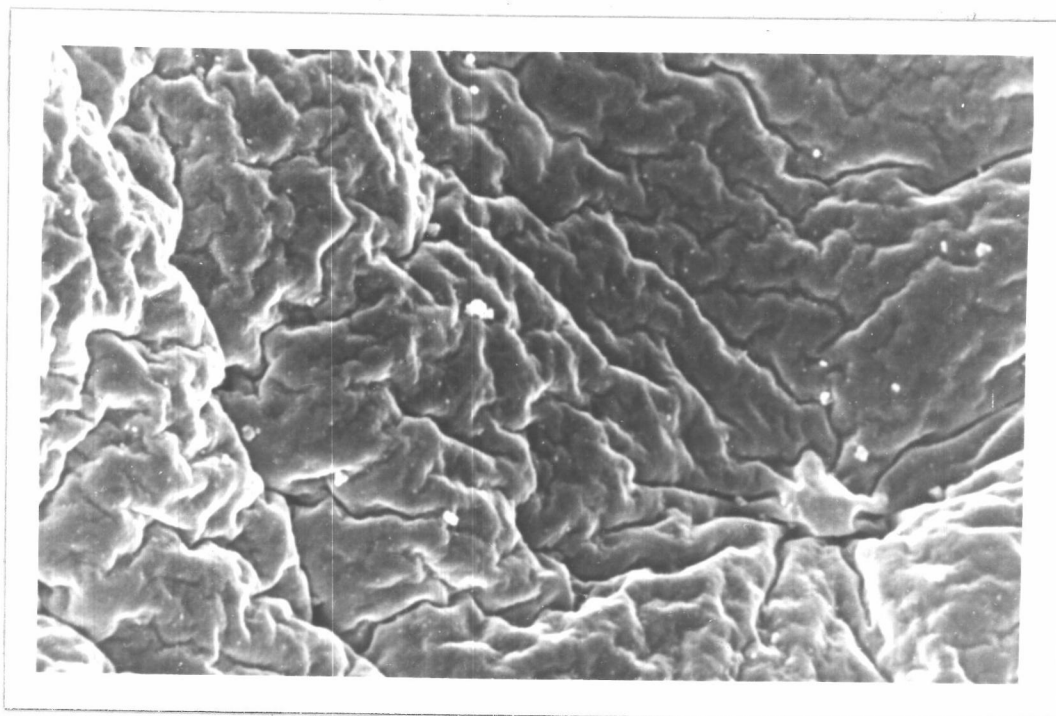
เกิดแอลกอฮอล์นั้น เซลล์จุลินทรีย์ทั้งสองมีปริมาณใกล้เคียงกันจึงแข่งขันกันเจริญเติบโตอยู่ภายในช่องตาข่ายเจล และจากผลการทดลองเปรียบเทียบแอกติวิตีระหว่างเซลล์อิสระกับเซลล์ตรึงรูปร่วมกัน แสดงให้เห็นว่า S. rouxii เจริญเติบโตได้ดีกว่าจึงผลิตแอลกอฮอล์ได้มากกว่า

Ogbonna, Amano และ Nakamura (1989) พบว่าเมื่อจุลินทรีย์เริ่มต้นในเม็ดเจลแคลเซียมอัลจิเนตมีจำนวนมากส่งผลให้ร้อยละของเม็ดเจลที่แตกมากขึ้นด้วย แต่ถ้าใช้จำนวนจุลินทรีย์เริ่มต้นน้อยเกินไปจะทำให้จำนวนเซลล์ถึงระดับสุดท้ายที่ต้องการช้า เช่น ภายในระยะเวลา 4 วันเท่ากัน ถ้าใช้เซลล์เริ่มต้น 10^2 เซลล์ จะได้จำนวนเซลล์สุดท้าย 10^8 เซลล์ แต่ถ้าใช้เซลล์เริ่มต้น 10^5 เซลล์ จะได้จำนวนเซลล์สุดท้าย 10^9 เซลล์ ซึ่งในการทดลองของคณะวิจัยนี้ได้สรุปว่า จำนวนจุลินทรีย์เริ่มต้นในเม็ดเจลแคลเซียมอัลจิเนตควรมีประมาณ 10^5 เซลล์ จึงจะส่งผลดีต่อเสถียรภาพของเม็ดเจล ซึ่งผลการการนับจำนวนเซลล์ที่มีชีวิตในเจลแคลเซียมอัลจิเนตก่อนนำไปใช้งานทั้งสามกรณีต่างมีค่าโดยรวมประมาณ 10^5 เซลล์ จึงสอดคล้องกับผลการวิจัยดังกล่าวข้างต้น

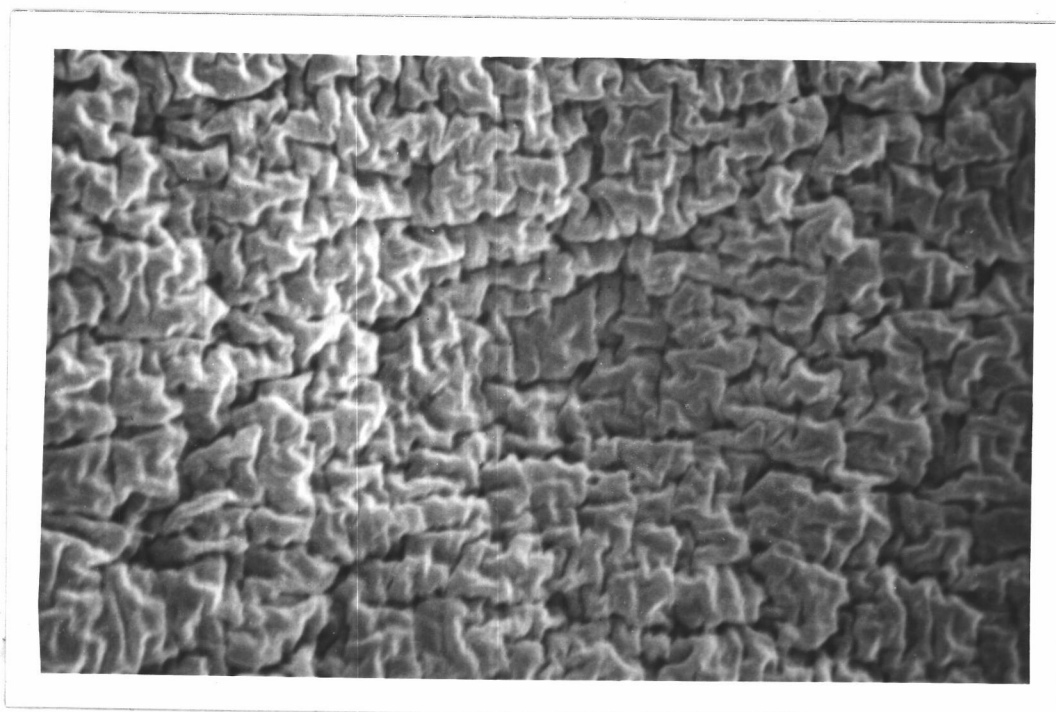
5.5.2 การพิจารณาภาพถ่ายอิเล็กตรอนของผิวเจลแคลเซียมอัลจิเนต

ภาพถ่ายอิเล็กตรอนของผิวเจลแคลเซียมอัลจิเนตในทันทีที่ตรึงรูปเสร็จ สำหรับกรณีต่างๆ แสดงดังรูปที่ 5.13, 5.14 และ 5.15

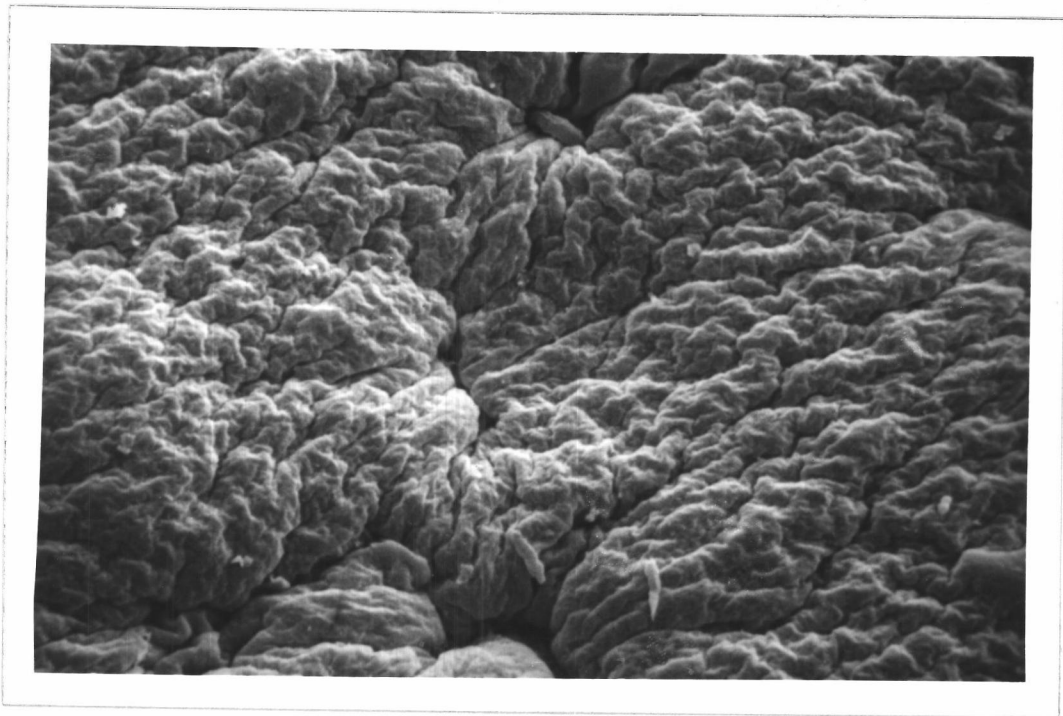
จากรูปที่ 5.13, 5.14 และ 5.15 ไม่พบความแตกต่างของผิวเจลแคลเซียมอัลจิเนตในกรณีต่างๆ ที่ห่อหุ้มเซลล์จุลินทรีย์ L. delbrueckii และ S. rouxii อยู่ภายในและเจลแคลเซียมอัลจิเนตสามารถห่อหุ้มเซลล์ที่มีชีวิตไว้ได้หมด เพราะขนาด pore ของเม็ดเจลแคลเซียมอัลจิเนตอยู่ในช่วง 5-200 นาโนเมตร (Smidsrod and Skjak-Braek, 1990) จึงสามารถห่อหุ้มเซลล์ของ L. delbrueckii ที่มีขนาด 0.5-0.8 x 2-9 ไมโครเมตร และเซลล์ของ S. rouxii ที่มีขนาด 2.5-7.0 x 4.0-9.5 ไมโครเมตร ไว้ได้



รูปที่ 5.13 ภาพถ่ายอิเล็กตรอนของผิวเจลแคลเซียมอัลจิเนตซึ่งห่อหุ้มเซลล์จุลินทรีย์ตรึงรูปร่วมกัน สำหรับการหมักเพื่อให้เกิดกรดแลคติก



รูปที่ 5.14 ภาพถ่ายอิเล็กตรอนของผิวเจลแคลเซียมอัลจิเนตซึ่งห่อหุ้มเซลล์จุลินทรีย์ตรึงรูปร่วมกัน สำหรับการหมักเพื่อให้เกิดแอลกอฮอล์



รูปที่ 5.15 ภาพถ่ายอิเล็กตรอนของผิวเจลแคลเซียมอัลจิเนตซึ่งห่อหุ้มเซลล์จุลินทรีย์ที่เรียงรูปร่วมกัน สำหรับการหมักเพื่อให้เกิดกรดแลคติก ร่วมกับการหมักเพื่อให้เกิดแอลกอฮอล์

5.6 ศึกษาผลกระทบของเกลือโซเดียมคลอไรด์ที่มีต่อเสถียรภาพของเซลล์ตั้งรูปร่วมกันแบบพหุหุ้ม ในช่องตาข่ายเจลแคลเซียมอัลจิเนต

ผลการศึกษาผลกระทบของเกลือที่มีต่อเสถียรภาพของเจลแคลเซียมอัลจิเนต แสดงดังรูปที่ 5.16 พบว่า ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 550 นาโนเมตรมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นเมื่อความเข้มข้นของเกลือเพิ่มขึ้น เพราะเกิดการแลกเปลี่ยนประจุวาระหว่างแคลเซียมในเจลกับโซเดียมในเกลือทำให้เซลล์อิสระหลุดออกจากเจลแคลเซียมอัลจิเนต

ในการหมักเพื่อให้เกิดกรดแลคติก ความเข้มข้นของเกลือ ร้อยละ 17 ให้ผลการทดลองที่ไม่แตกต่างกัน ดังนั้นจึงเลือกความเข้มข้นของเกลือ ร้อยละ 17 เป็นความเข้มข้นสูงสุดที่ส่งผลกระทบต่อเสถียรภาพของเจลแคลเซียมอัลจิเนตน้อยที่สุด

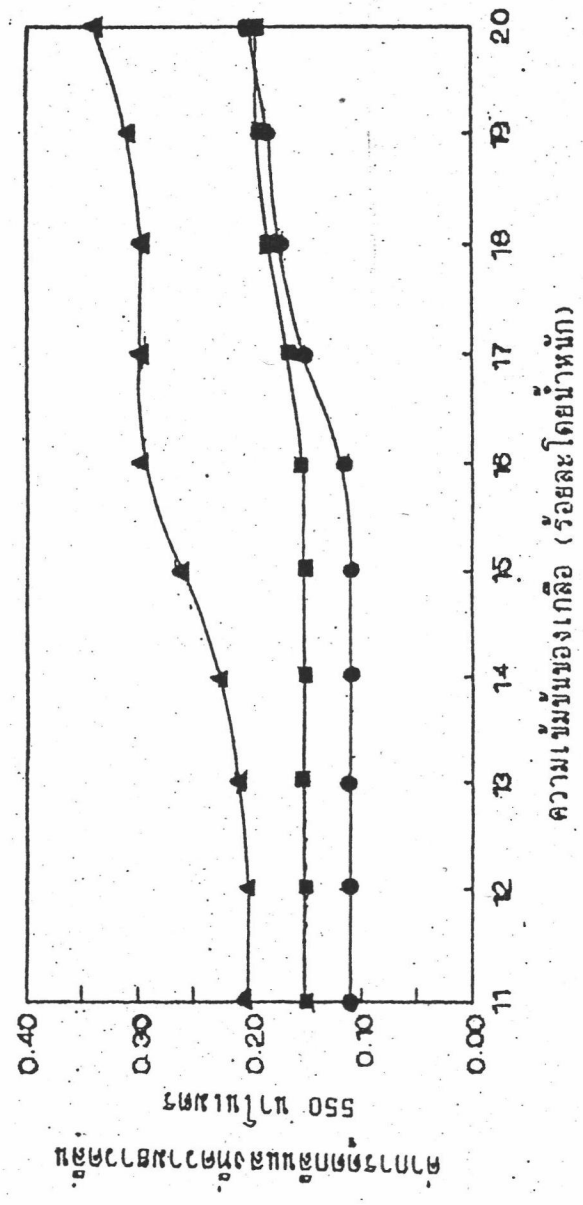
ในการหมักเพื่อให้เกิดแอลกอฮอล์ ความเข้มข้นของเกลือ ร้อยละ 16 ให้ผลการทดลองที่ไม่แตกต่างกัน ดังนั้นจึงเลือกความเข้มข้นของเกลือ ร้อยละ 16 เป็นความเข้มข้นสูงสุดที่ส่งผลกระทบต่อเสถียรภาพของเจลแคลเซียมอัลจิเนตน้อยที่สุด

ในการหมักเพื่อให้เกิดกรดแลคติก ร่วมกับการหมักเพื่อให้เกิดแอลกอฮอล์ ความเข้มข้นของเกลือ ร้อยละ 14 ให้ผลการทดลองที่ไม่แตกต่างกัน ดังนั้นจึงเลือกความเข้มข้นของเกลือ ร้อยละ 14 เป็นความเข้มข้นสูงสุดที่ส่งผลกระทบต่อเสถียรภาพของเจลแคลเซียมอัลจิเนตน้อยที่สุด

ปริมาณกรดแลคติกและแอลกอฮอล์ที่เซลล์จุลินทรีย์ตั้งรูปร่วมกัน ในการหมักเพื่อให้เกิดกรดแลคติก การหมักเพื่อให้เกิดแอลกอฮอล์ และการหมักเพื่อให้เกิดกรดแลคติก ร่วมกับการหมักเพื่อให้เกิดแอลกอฮอล์ ผลิตได้ในช่วงเวลา 7 วัน จากอาหารเหลว YM ที่มีเกลือเข้มข้นร้อยละ 17, 16 และ 14 โดยน้ำหนัก ตามลำดับ ไม่แตกต่างจากปริมาณกรดแลคติกและแอลกอฮอล์ที่เซลล์ตั้งรูปร่วมกันผลิตได้ในช่วงเวลา 3 วัน จากอาหารเหลว YM ที่ไม่มีเกลือ จากผลการทดลองดังกล่าวแสดงให้เห็นว่า เซลล์ตั้งรูปร่วมกันต้องใช้เวลาในการผลิตกรดแลคติกและแอลกอฮอล์ให้ได้ปริมาณสูงสุด ในอาหารเหลวที่มีความเข้มข้นของเกลือสูงๆ นานกว่าปกติ เพราะจุลินทรีย์ต้องใช้เวลาปรับตัวให้เข้ากับสภาพแวดล้อมที่เปลี่ยนไปจากเดิม

เนื่องจากเซลล์จุลินทรีย์ตรึงรูปร่วมกันต้องถูกนำไปใช้หมักกรดแลคติกและแอลกอฮอล์
ในโปรตีนไฮโดรไลเซตจากถั่วเหลืองซึ่งมีความเข้มข้นของเกลือสูง ดังนั้น จำเป็นต้องบ่ม
เซลล์ตรึงรูปร่วมกันในอาหารเหลว YM ที่มีเกลือเข้มข้นร้อยละ 17, 16 และ 14 โดยน้ำหนัก
สำหรับกรณีต่างๆ เป็นเวลา 7 วัน ก่อนนำไปใช้หมักน้ำชีวต่อไป

งานวิจัยของ Hamado, Ishiyama และ Motai (1989) นั้น เมื่อใช้สาร
ละลายสำหรับหมักน้ำชีวที่มีความเข้มข้นของเกลือสูงมากขึ้นกว่าร้อยละ 10 ปริมาณแอลกอฮอล์
และจำนวนจุลินทรีย์ภายในเจลเคลือบกลับลดลง แต่จำเป็นต้องใช้เกลือที่มีความเข้มข้น
สูงถึงร้อยละ 13 เพื่อลดความเสี่ยงจากการปนเปื้อนของจุลินทรีย์ชนิดอื่น งานวิจัยนี้ก็เช่นกัน
ต้องพิจารณาทั้งปริมาณของผลิตภัณฑ์ ปริมาณเซลล์ที่หลุดออกจากเจล และความทนทานของเม็ด
เจลไปพร้อมๆ กัน ถึงแม้จุลินทรีย์ที่นำมาใช้งานวิจัยจะเป็นจุลินทรีย์ที่ทนเกลือได้ แต่การใช้
อาหารเหลวสำหรับหมักที่มีความเข้มข้นของเกลือไฮเดียมคลอไรด์สูง กลับส่งผลให้เจลเคลือบ
อัลจิเนตกลับคืนสู่สภาพเจลไฮเดียมอัลจิเนต ซึ่งไม่สามารถคงรูปอยู่ได้ ส่งผลให้เซลล์จุลินทรีย์ที่
ถูกห่อหุ้มอยู่เดิมหลุดออกมา เซลล์อิสระที่หลุดออกมานี้จะยังคงแอกติวิตีในการหมักได้ระยะหนึ่ง
ก่อนจะตายไป ดังนั้นปริมาณของผลิตภัณฑ์ที่ได้เมื่อใช้อาหารเหลวที่มีความเข้มข้นของเกลือ
ไฮเดียมคลอไรด์สูงๆ ย่อมเกิดจากเซลล์อิสระดังกล่าว



รูปที่ 5.16 ผลกระทบของเกลือความเข้มข้นต่างๆ ที่มีต่อเสถียรภาพของเซลล์จริงรูปร่วมกัน สำหรับกรณี การหมักเพื่อให้เกิดกรดแลคติก (■) การหมักเพื่อให้เกิดแอลกอฮอล์ (●) และการหมัก การหมักเพื่อให้เกิดกรดแลคติกร่วมกับกาารหมักเพื่อให้เกิดแอลกอฮอล์ (▲) โดยแสดงในรูปแบบ การดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 550 ไมโครเมตร

5.7 การวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีและฟิสิกส์ของโปรตีนไฮโดรไลเซตจากถั่วเหลือง

จากการวิเคราะห์องค์ประกอบของตัวอย่างโปรตีนไฮโดรไลเซตจากถั่วเหลืองก่อนนำมาใช้ในการหมักน้ำขี้วัวสำหรับการหมักกรดแลคติก กรดไขมันแอลกอฮอล์ และกรดไขมันกรดแลคติกร่วมกับการหมักแอลกอฮอล์ ให้ผลการทดลองดังตารางที่ 5.19

ตารางที่ 5.19 องค์ประกอบทางเคมีและฟิสิกส์ของโปรตีนไฮโดรไลเซตจากถั่วเหลือง

องค์ประกอบ	ก่อนการ ปรับสภาพ	กรดไขมัน กรดแลคติก	กรดไขมัน แอลกอฮอล์	กรดไขมัน กรดแลคติก - แอลกอฮอล์
1. กรดแลคติก (มิลลิกรัม/มิลลิลิตร)	5.12±0.08	0.00±0.00	6.14±0.05	1.78±0.06
2. แอลกอฮอล์ (มิลลิกรัม/มิลลิลิตร)	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00
3. ไนโตรเจนทั้งหมด (ร้อยละโดยน้ำหนัก)	3.05±0.21	3.02±0.17	2.93±0.20	3.07±0.15
4. เกลือ (ร้อยละโดยน้ำหนัก)	21.02±0.14	17.20±0.10	16.18±0.07	14.05±0.09
5. กลูโคส (ร้อยละโดยน้ำหนัก)	0.06±0.02	0.05±0.01	0.06±0.01	0.06±0.02
6. ความตึงจำเพาะ ที่อุณหภูมิ 27±3 °C	1.22±0.06	1.21±0.03	1.22±0.05	1.23±0.03
7. pH ที่อุณหภูมิ 27±3 °C	5.08±0.13	6.95±0.09	4.61±0.04	6.11±0.10

จากตารางที่ 5.19 เมื่อเปรียบเทียบระหว่างโปรตีนไฮโดรไลเซตเดิมกับโปรตีนไฮโดรไลเซตที่ใช้ในกรณีการหมักต่างๆ พบว่า องค์ประกอบที่เปลี่ยนไปจากเดิมอย่างชัดเจน คือกรดแลคติก เกลือ และ pH ทั้งนี้เพื่อให้เหมาะสมกับภาวะการหมักของกรณีต่างๆ ดังได้กล่าวถึงข้างต้นแล้ว แต่องค์ประกอบที่สำคัญอีกประการ คือ กลูโคส ซึ่งมีอยู่ประมาณร้อยละ 0.06 โดยน้ำหนักนั้นน้อยเกินกว่าจะใช้เป็นซับสเตรตให้จุลินทรีย์ใช้ในการเจริญเติบโตและสร้างผลิตภัณฑ์จึงเติมกลูโคสในโปรตีนไฮโดรไลเซตสำหรับการหมักทุกกรณี ให้ความเข้มข้นร้อยละ 1 โดยน้ำหนัก ก่อนนำไปทดลองหมักน้ำซีอิ้ว

5.8 การศึกษากระบวนการหมักน้ำชี้อิวอย่างไม่ต่อเนื่องโดยเซลล์ตรึงรูปร่วมกันแบบห่อหุ้มในช่องตาข่ายเจลแคลเซียมอัลจิเนต

จากการทดลองหมักน้ำชี้อิวอย่างไม่ต่อเนื่องโดยใช้โปรตีนไฮโดรไลเซตเริ่มต้นที่เติมกลูโคสร้อยละ 1 โดยน้ำหนัก เมื่อการหมักหยุดชะงักหรือเกิดผลิตภัณฑ์เพียงเล็กน้อย เติมกลูโคสร้อยละ 1 โดยน้ำหนัก ลงในโปรตีนไฮโดรไลเซตเดิม ทำการหมักจนกระทั่ง pH อยู่ในช่วง 4.0-4.5 โดยเซลล์ตรึงรูปร่วมกันแบบห่อหุ้มในช่องตาข่ายเจลแคลเซียมอัลจิเนตระหว่าง *L. delbrueckii* และ *S. rouxii* ให้ผลการทดลองตามกรณีการหมักกรดแลคติก กรณีการหมักแอลกอฮอล์ และกรณีการหมักกรดแลคติกร่วมกับการหมักแอลกอฮอล์ ดังรูปที่ 5.17 5.18 และ 5.19 ตามลำดับ

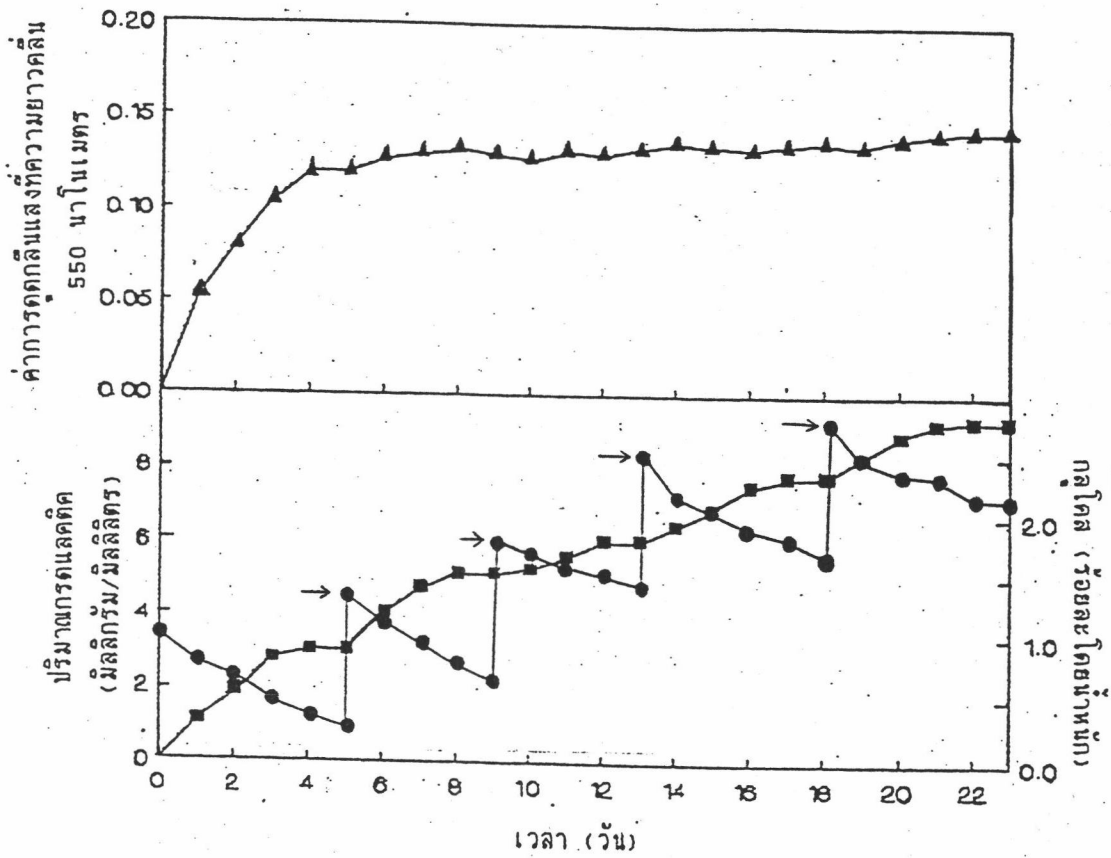
การหมักน้ำชี้อิวอย่างไม่ต่อเนื่องโดยเซลล์ตรึงรูปร่วมกัน ในกรณีการหมักกรดแลคติก ดังรูปที่ 5.17 พบว่า ในวันที่ 5, 9, 13 และ 18 ปริมาณกรดแลคติกเกิดขึ้นน้อยมากจนไม่แตกต่างจากวันก่อนหน้านั้น จึงเติมกลูโคสร้อยละ 1 โดยน้ำหนักลงไปเพื่อกระตุ้นให้การหมักดำเนินต่อไป จนกระทั่งวันที่ 22 pH ของสารละลายสำหรับหมักลดลงเหลือ 4.40 จึงหยุดการทดลอง ตลอดระยะเวลา 22 วัน เซลล์จุลินทรีย์ตรึงรูปร่วมกันผลิตกรดแลคติกได้ 9.36 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร รวมแล้วเติมกลูโคสลงไปทั้งสิ้น ร้อยละ 5 โดยน้ำหนัก และมีกลูโคสคงเหลือร้อยละ 2.31 โดยน้ำหนัก

การหมักน้ำชี้อิวอย่างไม่ต่อเนื่องโดยเซลล์ตรึงรูปร่วมกัน ในกรณีการหมักแอลกอฮอล์ ดังรูปที่ 5.18 พบว่า ในวันที่ 4, 8, 12 และ 17 ปริมาณแอลกอฮอล์เกิดขึ้นน้อยมากจนไม่แตกต่างจากวันก่อนหน้านั้น จึงเติมกลูโคสร้อยละ 1 โดยน้ำหนักลงไปเพื่อกระตุ้นให้การหมักดำเนินต่อไป จนกระทั่งวันที่ 20 pH ของสารละลายสำหรับหมักลดลงเหลือ 4.10 จึงหยุดการทดลอง ตลอดระยะเวลา 20 วัน เซลล์จุลินทรีย์ตรึงรูปร่วมกันผลิตแอลกอฮอล์ได้ 10.45 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร รวมแล้วเติมกลูโคสลงไปทั้งสิ้น ร้อยละ 5 โดยน้ำหนัก และมีกลูโคสคงเหลือร้อยละ 2.01 โดยน้ำหนัก

การหมักน้ำซีอิ้วอย่างไม่ต่อเนื่องโดยเซลล์ตรึงรูปร่วมกัน ในกรณีการหมักกรดแลคติก ร่วมกับการหมักแอลกอฮอล์ดังรูปที่ 5.19 พบว่า ในวันที่ 3, 7, 11 และ 15 ปริมาณกรดแลคติกและแอลกอฮอล์เกิดขึ้นน้อยมากจนไม่แตกต่างจากวันก่อนหน้านั้น จึงเติมกลูโคสร้อยละ 1 โดยน้ำหนักลงไปเพื่อกระตุ้นให้การหมักดำเนินต่อไป จนกระทั่งวันที่ 21 pH ของสารละลายสำหรับหมักลดลงเหลือ 4.54 จึงหยุดการทดลอง ตลอดระยะเวลา 21 วัน เซลล์จุลินทรีย์ตรึงรูปร่วมกันผลิตกรดแลคติกและแอลกอฮอล์ได้ 7.74 และ 9.72 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ตามลำดับรวมแล้วเติมกลูโคสลงไปทั้งสิ้น ร้อยละ 5 โดยน้ำหนัก และมีกลูโคสคงเหลือร้อยละ 1.91 โดยน้ำหนัก

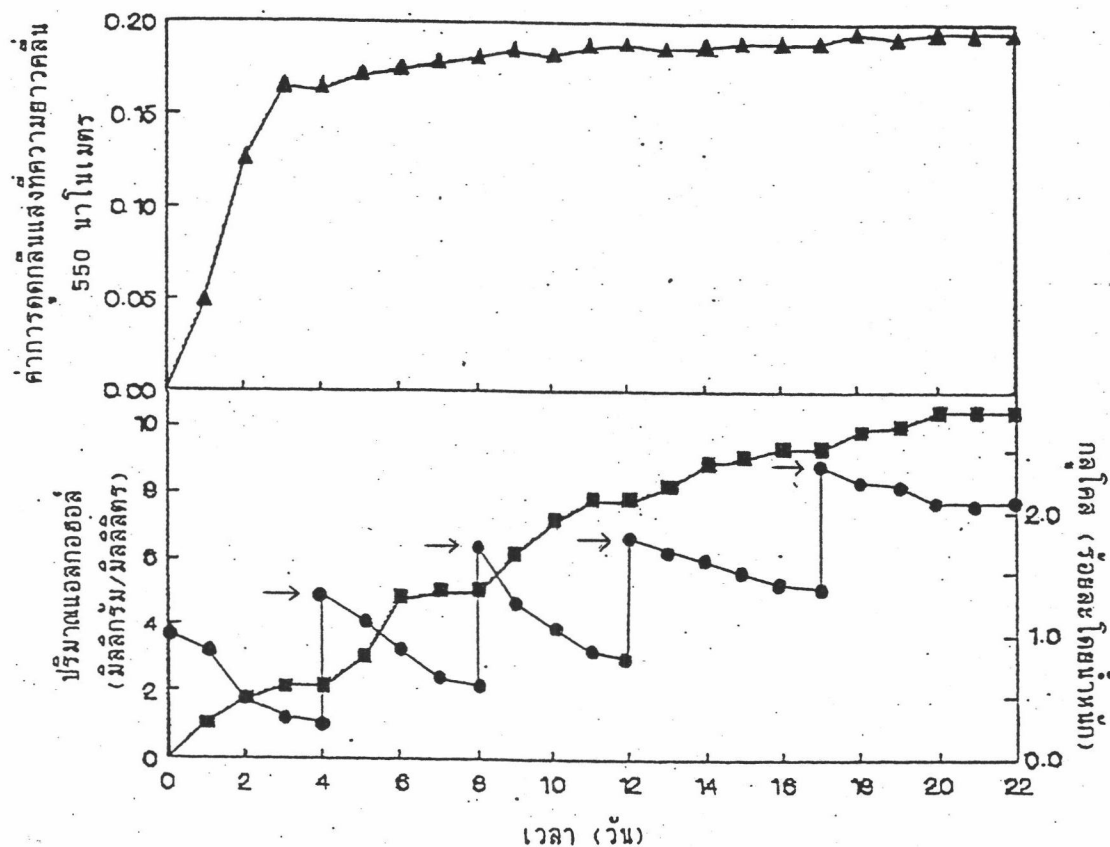
เมื่อเปรียบเทียบการหมักทั้ง 3 กรณีแล้ว กรณีการหมักกรดแลคติกร่วมกับการหมักแอลกอฮอล์มีประสิทธิภาพสูงกว่าอีก 2 กรณี กล่าวคือ เป็นกรณีเดียวที่ทำให้เกิดการกรดแลคติกและการหมักแอลกอฮอล์ควบคู่กันไป อีกทั้งใช้เวลาในการหมักเพียง 21 วัน แล้วให้ผลผลิตกรดแลคติกและแอลกอฮอล์อยู่ในระดับที่น่าพึงพอใจ ในขณะที่กรณีการหมักกรดแลคติกใช้เวลาการหมัก 22 วัน และกรณีการหมักแอลกอฮอล์ใช้เวลาการหมัก 20 วัน ซึ่งรวมแล้วต้องใช้เวลาต่อเนื่องกันนานถึง 42 วัน จึงจะให้ผลผลิตกรดแลคติกและแอลกอฮอล์ในระดับที่น่าพึงพอใจ

ดังนั้นในการทดลองหมักน้ำซีอิ้วอย่างต่อเนื่องจึงนำเซลล์ตรึงรูปร่วมกันในกรณีการหมักกรดแลคติกร่วมกับการหมักแอลกอฮอล์เพียงกรณีเดียวมาใช้ในการศึกษาต่อไป



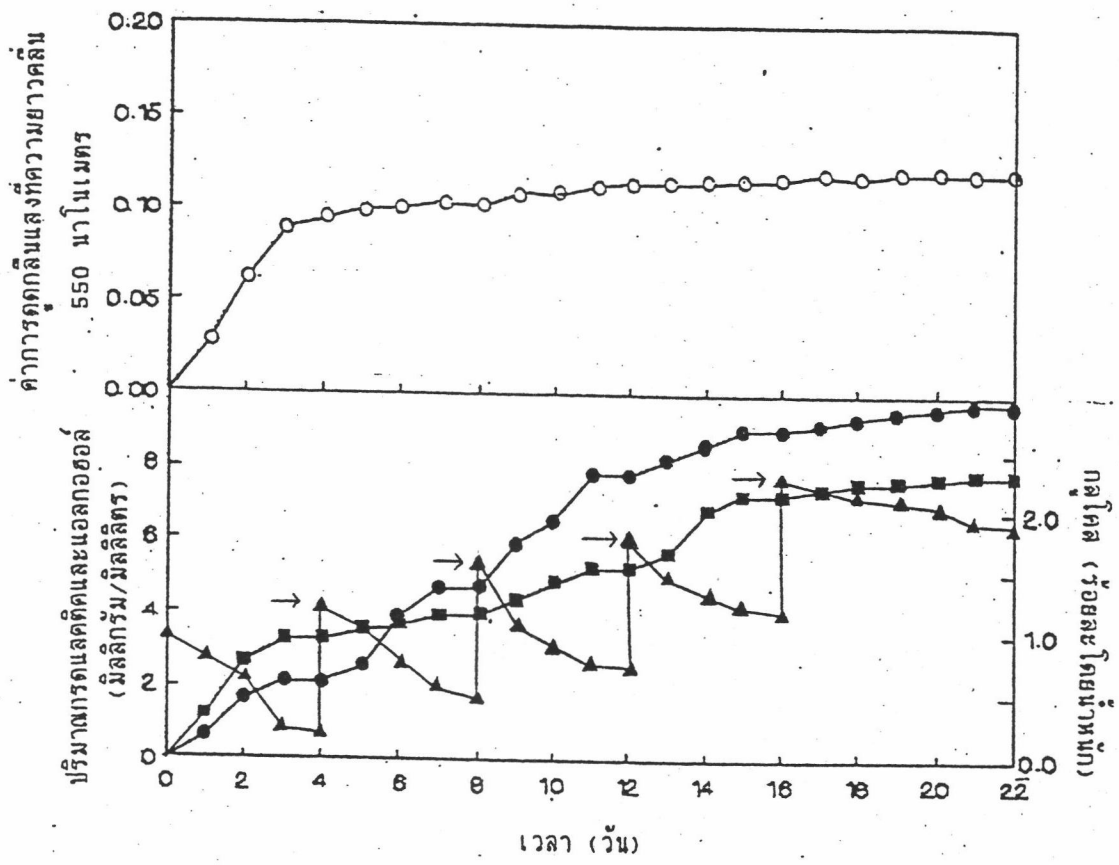
- คือ ปริมาณกรดแลคติก
- คือ ปริมาณกลูโคส
- ▲ คือ ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 550 นาโนเมตร

รูปที่ 5.17 ปริมาณกรดแลคติก กลูโคส และค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 550 นาโนเมตร เมื่อหมักน้ำข้าวอย่างไม่ต่อเนื่องโดยเซลล์ตรังรูปร่วมกัน ในกรณีการหมักกรดแลคติก เครื่องหมาย \longrightarrow คือ การเติมกลูโคสลงไป ร้อยละ 1 โดยน้ำหนัก



- คือ ปริมาณแอลกอฮอล์
- คือ ปริมาณกลูโคส
- ▲ คือ ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 550 นาโนเมตร

รูปที่ 5.18 ปริมาณแอลกอฮอล์ กลูโคส และค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 550 นาโนเมตร เมื่อหมักน้ำซาวอย่างไม่ต่อเนื่องโดยเซลล์ตั้งรูปร่วมกัน ในกรณีการหมักแอลกอฮอล์ เครื่องหมาย \longrightarrow คือ การเติมกลูโคสลงไป ร้อยละ 1 โดยน้ำหนัก



- คือ ปริมาณกรดแลคติก
- คือ ปริมาณแอลกอฮอล์
- ▲ คือ ปริมาณกลูโคส
- คือ ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 550 นาโนเมตร

รูปที่ 5.19 ปริมาณกรดแลคติก แอลกอฮอล์ กลูโคส และค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 550 นาโนเมตร เมื่อหมักน้ำข้าวอย่างไม่ต่อเนื่องโดยเซลล์ตรึงรูปร่วมกัน ในกรณีการหมักกรดแลคติกร่วมกับการหมักแอลกอฮอล์

เครื่องหมาย → คือ การเติมกลูโคสลงไป ร้อยละ 1 โดยน้ำหนัก

5.9 ศึกษากระบวนการหมักน้ำชีวีวในเครื่องปฏิกรณ์ชีวภาพเซลล์ตรึงรูปร่วมกัน แบบห่อหุ้มในช่อง
ตาข่ายเจลแคลเซียมอัลจิเนต

5.9.1 ความสัมพันธ์ระหว่าง retention time กับความดันตก

ในการหาความสัมพันธ์ระหว่าง retention time กับความดันตก ใน
คอลัมน์บรรจุเซลล์ตรึงรูปร่วมกันแบบห่อหุ้มในช่องตาข่ายเจลแคลเซียมอัลจิเนต และมีการไหล
เข้าออกของโปรตีนไฮโดรไลเซตให้ผลการทดลองดังตารางที่ 5.20

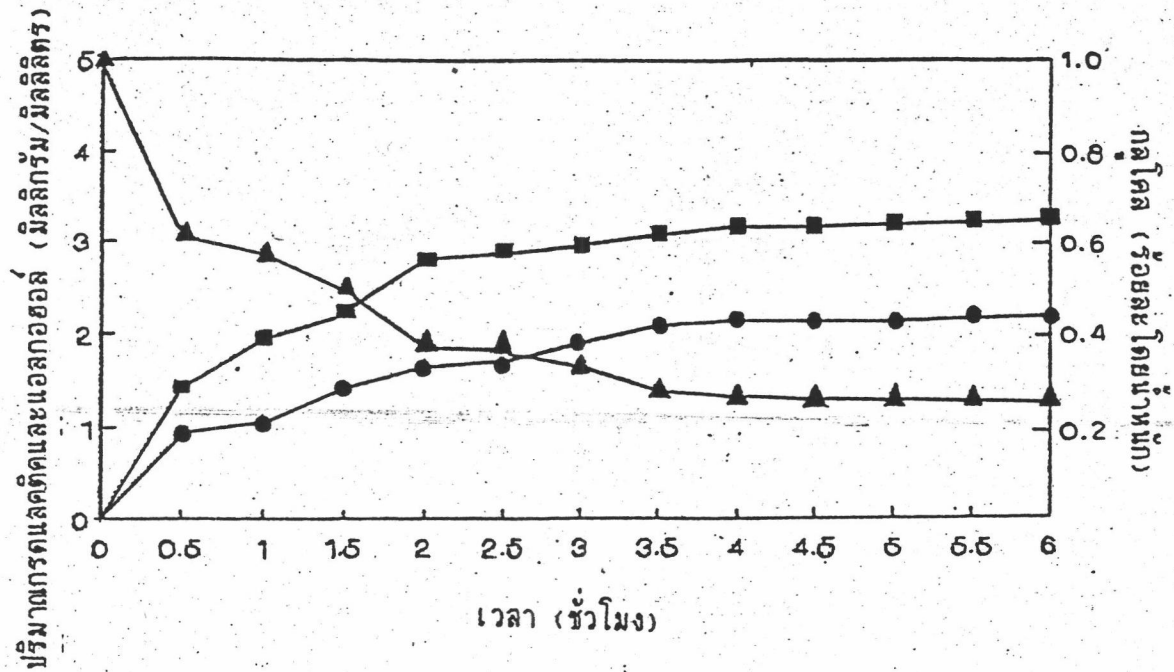
ตารางที่ 5.20 ความสัมพันธ์ระหว่าง retention time อัตราการไหล และความดันตกที่เกิด
ขึ้นในเครื่องปฏิกรณ์ชีวภาพเซลล์ตรึงรูปร่วมกัน

retention time (ชั่วโมง)	อัตราการไหล (มิลลิเมตร/นาที)	ความดันตก (มิลลิเมตรปรอท)
0.5	20.0	18
1.0	10.0	17
1.5	6.7	17
2.0	5.0	17
2.5	4.0	17
3.0	3.3	16
3.5	2.9	16
4.0	2.5	16
4.5	2.2	16
5.0	2.0	16
5.5	1.8	16
6.0	1.7	16

จากผลการทดลอง retention time หรืออัตราการไหลของโปรตีนไฮโดรไลเซต
ที่แปรเปลี่ยนไปส่งผลกระทบต่อความดันตกน้อยมาก จึงไม่สามารถใช้มาตรสำหรับวัด
ความดันตกมาควบคุม retention time ของโปรตีนไฮโดรไลเซตที่ไหลเวียนในเครื่องปฏิกรณ์
ชีวภาพได้ ดังนั้นในการกำหนด retention time ที่เหมาะสมต่อการหมักน้ำชี้อัวอย่าง
ต่อเนื่องจึงควบคุม retention time จากอัตราการไหลของโปรตีนไฮโดรไลเซต

5.9.2 การกำหนด retention time ที่เหมาะสมต่อการหมักน้ำชี้อัวอย่างต่อเนื่อง

ในการกำหนด retention time ที่เหมาะสมต่อการหมักน้ำชี้อัวอย่าง
ต่อเนื่อง ในคอลัมน์บรรจุเซลล์ตรึงรูปร่างกันแบบห่อหุ้มในช่องตาข่ายเจลเคลือบอัลจิเนต และ
มีการไหลเข้าออกของโปรตีนไฮโดรไลเซตให้ผลการทดลองดังรูปที่ 5.20



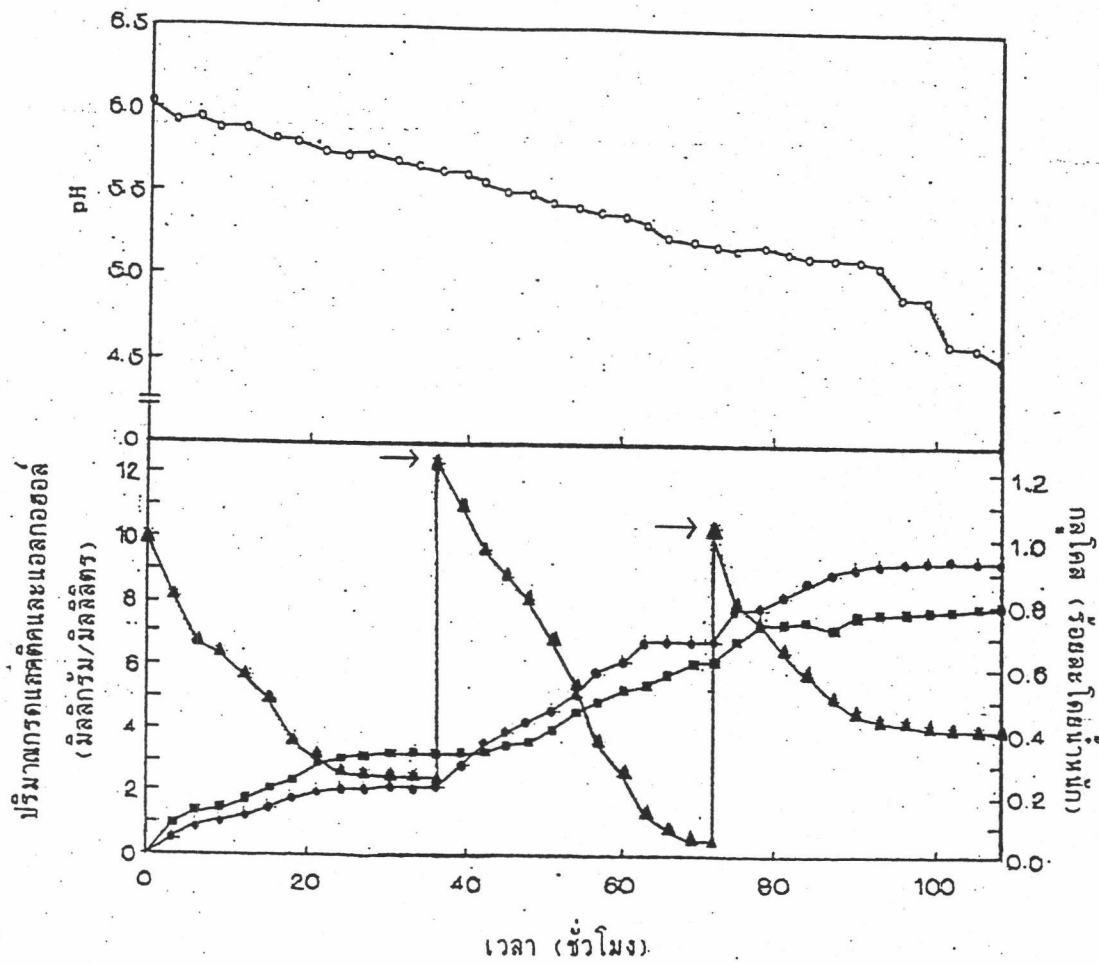
- คือ ปริมาณกรดแลคติก
- คือ ปริมาณแอลกอฮอล์
- ▲ คือ ปริมาณกลูโคส

รูปที่ 5.20 ปริมาณกรดแลคติก แอลกอฮอล์ และกลูโคส เมื่อแปร retention time ต่างๆ ในเครื่องปฏิกรณ์ชีวภาพเซลล์ตรึงรูปร่างกันแบบห่อหุ้มในช่องตาข่ายเจลแคลเซียมอัลจิเนต

จากรูปที่ 5.20 เมื่อเดินเครื่องปฏิกรณ์ชีวภาพเซลล์จุลินทรีย์ตรึงรูปร่วมกัน โดยมี retention time 4 ชั่วโมง หรืออัตราการไหล 2.5 มิลลิลิตร/นาที เป็นเวลา 24 ชั่วโมง เซลล์ตรึงรูปร่วมกันสามารถผลิตกรดแลคติกและแอลกอฮอล์ได้สูงที่สุด ถึงแม้จะเพิ่ม retention time ให้มากกว่า 4 ชั่วโมง ก็ไม่ทำให้การผลิตกรดแลคติกและแอลกอฮอล์เพิ่มขึ้น ดังนั้นเพื่อให้กระบวนการหมักดำเนินไปอย่างรวดเร็วที่สุด retention time ที่เหมาะสมต่อการหมักน้ำชี้อาจต่อเนื่องในเครื่องปฏิกรณ์ชีวภาพเซลล์ตรึงรูปร่วมกัน คือ 4 ชั่วโมง

5.9.3 การหมักกรดแลคติกและแอลกอฮอล์ในน้ำชี้อ้ว โดยใช้เครื่องปฏิกรณ์ชีวภาพเซลล์ตรึงรูปร่วมกันแบบห่อหุ้มในช่องตาข่ายเจลแคลเซียมอัลจิเนต

จากการทดลองหมักน้ำชี้อ้วอย่างต่อเนื่อง ในเครื่องปฏิกรณ์ชีวภาพเซลล์ตรึงรูปร่วมกัน แบบห่อหุ้มในช่องตาข่ายเจลแคลเซียมอัลจิเนต ให้ผลการทดลองดังรูปที่ 5.21



- คือ ปริมาณกรดแลคติก
- คือ ปริมาณแอลกอฮอล์
- ▲ คือ ปริมาณกลูโคส
- คือ pH

รูปที่ 5.21 ปริมาณกรดแลคติก แอลกอฮอล์ กลูโคส และ pH จากการหมักน้ำซึ่วอย่าง ต่อเนื่อง ในเครื่องปฏิกรณ์ชีวภาพเซลล์ตรึงรูปร่วมกันแบบห่อหุ้มในช่องตาข่ายเจล แคลเซียมอัลจิเนต เครื่องหมาย \longrightarrow คือ การเติมกลูโคสลงไป ร้อยละ 1 โดย น้ำหนัก

จากการทดลองหมักน้ำชีวี้อย่างต่อเนื่อง ในเครื่องปฏิกรณ์ชีวภาพเซลล์
ตรึงรูปร่วมกันแบบท่อหุ้มในช่องตาข่ายเจลแคลเซียมอัลจิเนต ควบคุม retention time ของ
ไบรดีนไฮโดรไลเซต เท่ากับ 4 ชั่วโมง ปริมาณเซลล์ตรึงรูปร่วมกันในแต่ละคอลัมน์ 70 กรัม
และปริมาตรของไบรดีนไฮโดรไลเซตที่ไหลเวียนในเครื่องปฏิกรณ์ 2000 มิลลิลิตร

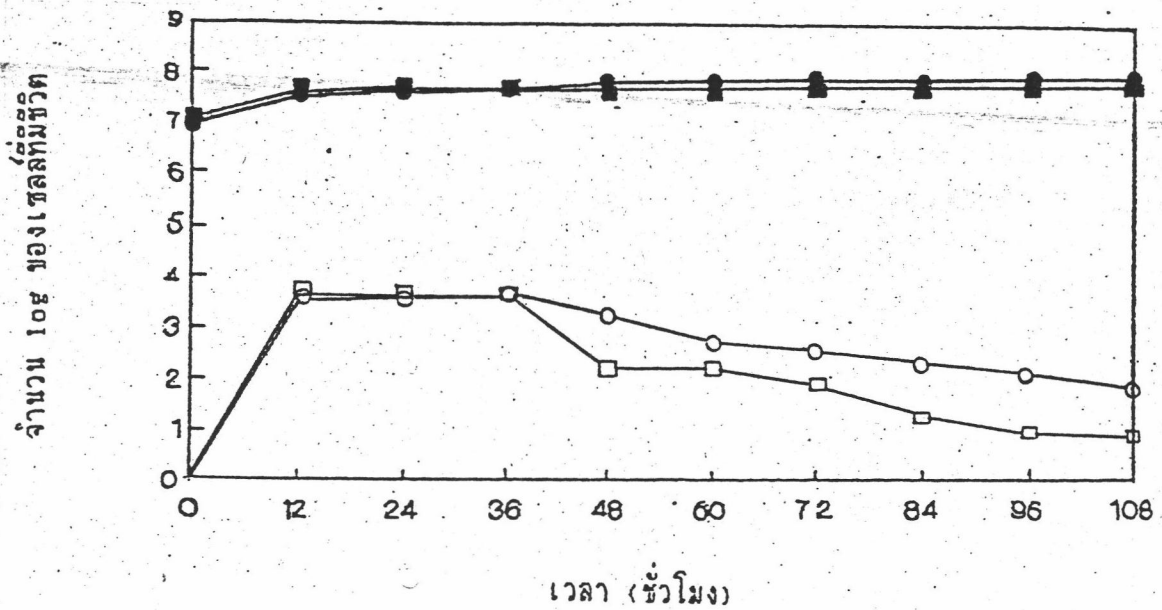
เมื่อติดตามการหมักทุก 3 ชั่วโมง โดยวิเคราะห์ปริมาณกรดแลคติกและ
แอลกอฮอล์ ปริมาณกลูโคสที่เหลือ และ pH ในของเหลวที่ผ่านการหมัก ดังรูปที่ 5.21
พบว่า ชั่วโมงที่ 36 และ 72 ปริมาณกรดแลคติกและแอลกอฮอล์ค่อนข้างคงที่ จึงเติมกลูโคส
ลงไปร้อยละ 1 โดยน้ำหนัก เพื่อให้เซลล์จุลินทรีย์ตรึงรูปร่วมกันใช้เป็นสับสเตรตในการหมักต่อไป
ภายหลังการหมักผ่านไป 108 ชั่วโมง (4.5 วัน) ของเหลวที่ผ่านการหมักมี pH ลดลงจนถึง
4.52 ซึ่งเป็นค่าต่ำสุดที่กำหนดไว้ตามมาตรฐานผลิตภัณฑ์น้ำชีวี จึงหยุดการทดลอง น้ำชีวีที่ได้
มีปริมาณกรดแลคติก 7.81 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร แอลกอฮอล์ 9.32 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร และมี
ปริมาณกลูโคสเหลืออยู่ ร้อยละ 0.39 โดยน้ำหนัก รวมปริมาณกลูโคสที่เติมลงไปร้อยละ 3 โดย
น้ำหนัก ซึ่งปริมาณกลูโคสที่เติมลงไปนั้น จุลินทรีย์จะนำไปใช้และเป็นสัดส่วนโดยตรงกับกรดแลคติก
และแอลกอฮอล์ที่จุลินทรีย์สร้างขึ้น (Hamada, Ishiyama, and Motai, 1989) เหตุผล
สำคัญของารเติมกลูโคสลงไปเป็นระยะเมื่อการหมักหยุดชะงัก แทนการเติมกลูโคสลงไปปริมาณ
มากในครั้งเดียว คือ เพื่อป้องกันมิให้ความเข้มข้นของกลูโคสที่มากเกินไป ยับยั้งการทำงานของ
เซลล์จุลินทรีย์ตรึงรูปร่วมกัน โดยเฉพาะ *L. delbrueckii* ซึ่งทนทานต่อสภาพแวดล้อมที่ไม่
เหมาะสมได้น้อยกว่า *S. rouxii* ซึ่งเป็นยีสต์ชนิด osmophile (Hesseltine, 1965) ที่ทน
ต่อความเข้มข้นของกลูโคสสูงๆ ได้ อย่างไรก็ตาม ภายใต้อาหารของเซลล์จุลินทรีย์ปกติ
เอนไซม์ในเซลล์จุลินทรีย์จะไม่อิ่มตัว (saturated) ด้วยสับสเตรตเพราะเซลล์จุลินทรีย์สามารถ
ผลิตเอนไซม์ออกมาให้พอเพียงกับปริมาณสับสเตรต (Tortora, Funke, and Case, 1992)

จากการทดลองหมักน้ำชีวี้อย่างต่อเนื่อง ในเครื่องปฏิกรณ์ชีวภาพเซลล์
ตรึงรูปของ Osaki และคณะ (1985) ใช้เวลาในการหมัก 80 วัน ส่วนของ Hamada,
Ishiyama และ Motai (1989) ใช้เวลาในการหมัก 50 วัน และของ Horitsu, Maseda
และ Kawai (1990) ใช้เวลาในการหมัก 8 วัน ใช้เวลานานกว่าการทดลองหมักน้ำชีวี้อย่าง
ต่อเนื่องในเครื่องปฏิกรณ์ชีวภาพเซลล์ตรึงรูปร่วมกันแบบท่อหุ้มในช่องตาข่ายเจลแคลเซียมอัลจิเนต
ซึ่งใช้เวลาเพียง 108 ชั่วโมงหรือ 4.5 วัน

5.10 ศึกษาเสถียรภาพการทำงานของเซลล์ตรึงรูปในเครื่องปฏิกรณ์ชีวภาพ

5.10.1 การนับจำนวนเซลล์ที่มีชีวิต

ในระหว่างที่กระบวนการหมักน้ำชี้อัวอย่างต่อเนื่อง ดำเนินไปในเครื่องปฏิกรณ์ชีวภาพเซลล์จุลินทรีย์ตรึงรูปร่วมกัน เซลล์ *L. delbrueckii* และ *S. rouxii* ที่มีชีวิตในเจลแคลเซียมอัลจีเนต และเซลล์อิสระที่หลุดออกจากเจลมีการเปลี่ยนแปลงดังรูปที่ 5.22



- คือ *L. delbrueckii* ที่มีชีวิตในเจลแคลเซียมอัลจิเนต
- คือ *L. delbrueckii* อีสรະในสารละลายสำหรับหมัก
- คือ *S. rouxii* ที่มีชีวิตในเจลแคลเซียมอัลจิเนต
- คือ *S. rouxii* อีสรະในสารละลายสำหรับหมัก

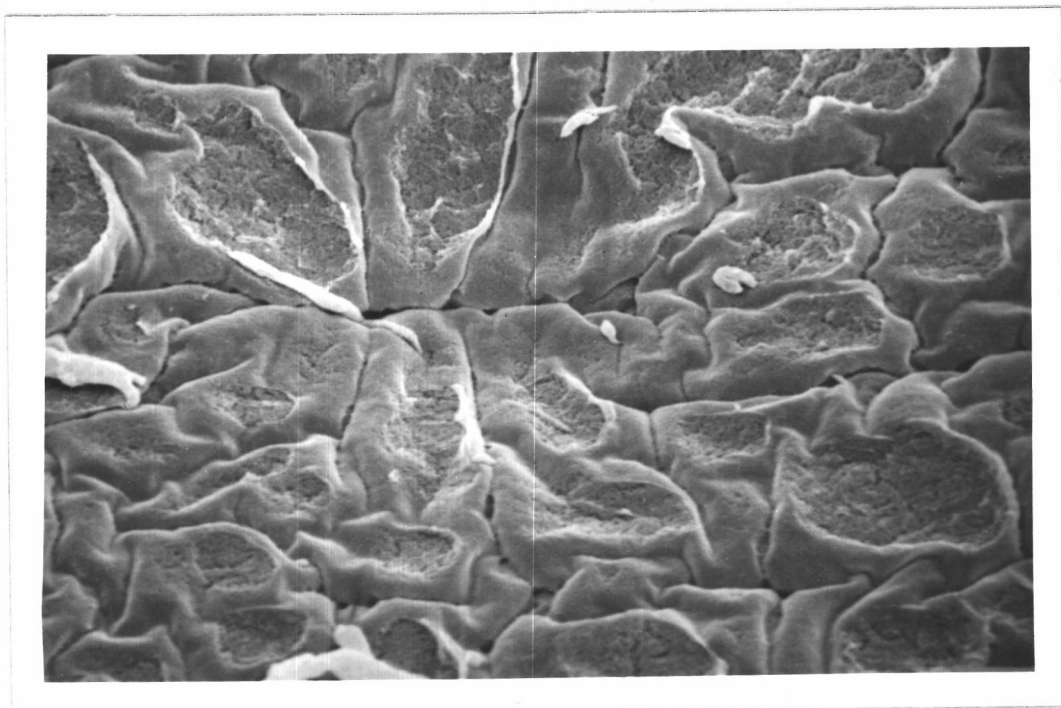
รูปที่ 5.22 ปริมาณเซลล์ *L. delbrueckii* และ *S. rouxii* ที่มีชีวิตในเจลแคลเซียมอัลจิเนต และเซลล์อีสรະที่หลุดออกจากเจล ในระหว่างที่กระบวนการหมักน้ำชี้อ้อยอย่างต่อเนื่องในเครื่องปฏิกรณ์ชีวภาพเซลล์จุลินทรีย์ตรึงรูปร่วมกัน

จากรูปที่ 5.22 ปริมาณเซลล์ *L. delbrueckii* และ *S. rouxii* ที่มีชีวิตในเจลแคลเซียมอัลจิเนตมีปริมาณค่อนข้างคงที่ตลอดระยะเวลาการหมัก เนื่องจากเซลล์ตรึงรูปรวมกันผ่านการบ่มในอาหารเหลว YM เป็นเวลา 7 วัน ซึ่งทำให้จุลินทรีย์ผ่านช่วง lag phase และ log phase ไปสู่ stationary phase ซึ่งเป็นช่วงที่เซลล์มีจำนวนคงที่ ในขณะที่เซลล์จุลินทรีย์บางส่วนที่หลุดออกจากเจลลู่ของเหลวภายนอกมีแนวโน้มลดลง ปรากฏการณ์นี้แสดงให้เห็นความสามารถของเจลแคลเซียมอัลจิเนตในการป้องกันเซลล์จุลินทรีย์ที่อยู่ภายใน จากสภาพแวดล้อมที่ไม่เหมาะสม โดยประจุของแคลเซียมที่อยู่ในโครงตาข่ายเจลจะทำปฏิกิริยากับกรดแลคติกที่อยู่ภายในเจลเกิดเป็นแคลเซียมแลคเตต ซึ่งไม่เป็นอันตรายต่อเซลล์ตรึงรูป (Tipayang and Kozaki, 1982) นอกจากนี้ Osaki และคณะ (1985) พบว่า ภายใน 40 ชั่วโมง จำนวนเซลล์ที่มีชีวิตภายในเม็ดเจลมีจำนวนมากกว่าเซลล์ที่มีชีวิตอยู่ในสารละลายสำหรับหมัก ตั้งแต่ 10^3 - 10^4 เท่า ซึ่งสอดคล้องกับผลการทดลองที่ได้ กล่าวคือ ในชั่วโมงที่ 48 จำนวนเซลล์ที่มีชีวิตภายในเม็ดเจลแคลเซียมอัลจิเนตมีจำนวนรวมประมาณ 10^8 เซลล์ มากกว่าจำนวนเซลล์ที่มีชีวิตอยู่ในสารละลายสำหรับหมัก (10^4 เซลล์) ประมาณ 10^4 เท่า

5.10.2 การพิจารณาภาพถ่ายอิเล็กตรอน

ภาพถ่ายอิเล็กตรอนของผิวเจลแคลเซียมอัลจิเนต ซึ่งห่อหุ้มเซลล์จุลินทรีย์ร่วมกัน สำหรับการหมักเพื่อให้เกิดกรดแลคติกควบคู่กับการหมักเพื่อให้เกิดแอลกอฮอล์ ภายหลังจากการหมักอย่างต่อเนื่องในเครื่องปฏิกรณ์ชีวภาพเสถียรที่ลดลง แสดงดังรูปที่ 5.23

ผิวเจลแคลเซียมอัลจิเนตภายหลังจากการหมักน้ำชี้อีกอย่างต่อเนื่อง ในเครื่องปฏิกรณ์ชีวภาพเป็นเวลา 108 ชั่วโมง มีลักษณะหลุดลอกที่ผิวส่วนนอก แต่ไม่พบรอยแตกบนเมล็ด Smidsrod and Skjak-Braek (1990) ได้รายงานไว้ว่า นอกจากเสถียรภาพของเจลแคลเซียมอัลจิเนตจะลดลงด้วยสารพวกฟอสเฟต (phosphate) หรือซิเตรต (citrate) ซึ่งมีความสามารถในการจับอออนของแคลเซียมแล้ว อออนที่ไม่ชักนำให้เกิดเจล (non gel-inducing ion) เช่น โซเดียม และแมกนีเซียม ที่มีความเข้มข้นสูงๆ ยังทำลายเสถียรภาพของเจลแคลเซียมอัลจิเนตอีกด้วย ในการทดลองนี้ใช้โปรตีนไฮโดรไลเซตที่มีความเข้มข้นของเกลือหรือโซเดียมคลอไรด์สูง จึงเป็นสาเหตุทำให้ผิวเจลแคลเซียมอัลจิเนตหลุดลอก



รูปที่ 5.23 ภาพถ่ายอิเล็กตรอนของผิวเจลดแคลเซียมอัลจินเตซึ่งห่อหุ้มเซลล์จุลินทรีย์ร่วมกันสำหรับการหมักเพื่อให้เกิดกรดแลคติก ร่วมกับการหมักเพื่อให้เกิดแอลกอฮอล์ ภายหลังจากหมักอย่างต่อเนื่องในเครื่องปฏิกรณ์ชีวภาพเสิร์ฟล้นลง

5.11 การวิเคราะห์ผลผลิตภัณฑ์

5.11.1 การวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีและฟิสิกส์

จากการวิเคราะห์องค์ประกอบของน้ำชีอีวี่ที่ได้จากการทดลองเปรียบเทียบกับผลิตภัณฑ์น้ำชีอีวี่และผลิตภัณฑ์น้ำชอสปรุงรสที่มีจำหน่ายในเชิงพาณิชย์ ให้ผลดังตารางที่ 5.21

ตารางที่ 5.21 องค์ประกอบของน้ำชีอีวี่ที่ผลิตได้และผลิตภัณฑ์น้ำชีอีวี่และผลิตภัณฑ์น้ำชอสปรุงรสที่มีจำหน่ายในเชิงพาณิชย์

องค์ประกอบ	น้ำชีอีวี่ ที่ผลิตได้	ตัวอย่างที่ 1	ตัวอย่างที่ 2	ตัวอย่างที่ 3
1. กรดแลคติก (มิลลิกรัม/มิลลิลิตร)	8.51±0.06	6.82±0.09	7.72±0.14	6.55±0.03
2. แอลกอฮอล์ (มิลลิกรัม/มิลลิลิตร)	9.32±0.07	9.06±0.16	20.25±0.10	2.17±0.05
3. ไนโตรเจนทั้งหมด (ร้อยละโดยน้ำหนัก)	3.08±0.21	1.55±0.12	1.73±0.25	3.14±0.16
4. เกลือ (ร้อยละโดยน้ำหนัก)	20.05±0.17	21.88±0.06	20.08±0.07	21.25±0.07
5. กลูโคส (ร้อยละโดยน้ำหนัก)	0.44±0.05	0.46±0.03	0.38±0.04	0.38±0.03
6. ความถ่วงจำเพาะ ที่อุณหภูมิ 27±3 °ซ	1.25±0.01	1.24±0.01	1.31±0.02	1.22±0.03
7. pH ที่อุณหภูมิ 27±3 °ซ	4.51±0.07	4.85±0.06	4.69±0.10	5.08±0.05

น้ำซีอิ๊วที่ผลิตได้	หมายถึง	น้ำซีอิ๊วที่ได้จากการหมักและผ่านการพาสเจอร์ไรส์
ตัวอย่างที่ 1	หมายถึง	ผลิตภัณฑ์น้ำซีอิ๊วที่มีจำหน่ายในเชิงพาณิชย์ชนิดที่ 1
ตัวอย่างที่ 2	หมายถึง	ผลิตภัณฑ์น้ำซีอิ๊วที่มีจำหน่ายในเชิงพาณิชย์ชนิดที่ 2
ตัวอย่างที่ 3	หมายถึง	ผลิตภัณฑ์น้ำซอสปรุงรสที่มีจำหน่ายในเชิงพาณิชย์

จากตารางที่ 5.21 เมื่อพิจารณาปริมาณกรดแลคติกและแอลกอฮอล์ของน้ำซีอิ๊วที่ผลิตได้จากการหมักโปรตีนไฮโดรไลเซตอย่างต่อเนื่องในเครื่องปฏิกรณ์ชีวภาพเซลล์ตรึงรูปร่วมกันระหว่าง *L. delbrueckii* และ *S. rouxii* แบบท่อหมุนในช่องตาข่ายเจลแคลเซียมอัลจิเนตที่มีปริมาณกรดแลคติกสูงกว่าตัวอย่างที่ 1, 2, และ 3 ซึ่งเป็นผลิตภัณฑ์น้ำซีอิ๊วและผลิตภัณฑ์น้ำซอสปรุงรสที่มีจำหน่ายในเชิงพาณิชย์ สาเหตุที่น้ำซีอิ๊วที่ผลิตได้มีปริมาณกรดแลคติกมากกว่าผลิตภัณฑ์น้ำซีอิ๊วและผลิตภัณฑ์น้ำซอสปรุงรสที่มีจำหน่ายในเชิงพาณิชย์ เป็นเพราะน้ำซีอิ๊วที่ผลิตได้ใช้โปรตีนไฮโดรไลเซตจากถั่วเหลืองซึ่งมี pH เริ่มต้น 6.0 เป็นวัตถุดิบ และการหมักในเครื่องปฏิกรณ์ชีวภาพเซลล์ตรึงรูปร่วมกันสิ้นสุดลงเมื่อ pH เท่ากับ 4.5 ในขณะที่การหมักน้ำซีอิ๊วในเชิงพาณิชย์โดยทั่วไปเป็นการหมักแบบธรรมชาติ คือ ใช้โคจิเต็มน้ำเกลือ โดยมี pH เริ่มต้นประมาณ 7.0 และ pH เมื่อการหมักสิ้นสุดลงประมาณ 5.0 (Yong and Wood, 1976) ดังนั้นเมื่อวิเคราะห์หาปริมาณกรดทั้งหมดในรูปกรดแลคติก น้ำซีอิ๊วที่ผลิตได้จึงมีปริมาณกรดแลคติกมากกว่าผลิตภัณฑ์น้ำซีอิ๊วและผลิตภัณฑ์น้ำซอสปรุงรสที่มีจำหน่ายในเชิงพาณิชย์ เมื่อวิเคราะห์หาปริมาณแอลกอฮอล์ พบว่า น้ำซีอิ๊วที่ผลิตได้มีปริมาณแอลกอฮอล์ใกล้เคียงกับตัวอย่างที่ 1 น้อยกว่าตัวอย่างที่ 2 แต่มากกว่าตัวอย่างที่ 3

เมื่อพิจารณาปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดของน้ำซีอิ๊วที่ผลิตได้ พบว่าใกล้เคียงกับผลิตภัณฑ์น้ำซอสปรุงรสที่มีจำหน่ายในเชิงพาณิชย์ แต่มากกว่าผลิตภัณฑ์น้ำซีอิ๊วที่มีจำหน่ายในเชิงพาณิชย์ ทั้งนี้เป็นเพราะน้ำซีอิ๊วที่ผลิตได้ใช้โปรตีนไฮโดรไลเซตจากถั่วเหลืองเป็นวัตถุดิบเช่นเดียวกับผลิตภัณฑ์น้ำซอสปรุงรสที่มีจำหน่ายในเชิงพาณิชย์ ซึ่งการผลิตโปรตีนไฮโดรไลเซตนั้นใช้กรดย่อยสลายโปรตีนในถั่วเหลือง (ไทยเทพรสผลิตภัณฑ์อาหารจำกัด, บริษัท, 2535) จึงทำให้ได้ไนโตรเจนมากกว่าผลิตภัณฑ์น้ำซีอิ๊วที่มีจำหน่ายในเชิงพาณิชย์ ซึ่งใช้เอนไซม์จากเชื้อราโนโคจิมาย่อยสลายโปรตีน (Yong and Wood, 1977b) สำหรับปริมาณกลูโคสและเกลือ pH และความถ่วงจำเพาะของน้ำซีอิ๊วที่ผลิตได้ใกล้เคียงกับผลิตภัณฑ์น้ำซีอิ๊วและน้ำซอสปรุงรสในเชิงพาณิชย์

5.11.2 การประเมินคุณภาพผลิตภัณฑ์ทางประสาทสัมผัส

จากการการประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัสของน้ำช็อคโกแลตที่ผลิตได้ และผลิตภัณฑ์น้ำช็อคโกแลตที่มีจำหน่ายในเชิงพาณิชย์ (ตัวอย่างที่ 1 และ 2) และผลิตภัณฑ์น้ำช็อคโกแลตสปริงรอสที่มีจำหน่ายในเชิงพาณิชย์ (ตัวอย่างที่ 3) โดยให้คะแนนทุกลักษณะเต็ม 25 คะแนน ให้ผลดังตารางที่ 5.22

ตารางที่ 5.22 คะแนนการประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัสของน้ำช็อคโกแลตที่ผลิตได้ ตัวอย่างที่ 1 ตัวอย่างที่ 2 และตัวอย่างที่ 3

ลักษณะ	คะแนนเฉลี่ย \pm ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน			
	น้ำช็อคโกแลตที่ผลิตได้	ตัวอย่างที่ 1	ตัวอย่างที่ 2	ตัวอย่างที่ 3
ความใส	19.93 \pm 2.26 ^{ns}	20.80 \pm 2.51 ^{ns}	19.73 \pm 1.78 ^{ns}	19.80 \pm 0.98 ^{ns}
กลิ่น	20.07 \pm 1.84 ^{ns}	19.67 \pm 1.70 ^{ns}	20.01 \pm 2.31 ^{ns}	20.47 \pm 1.31 ^{ns}
รส	20.87 \pm 2.26 ^{ns}	21.07 \pm 1.48 ^{ns}	19.53 \pm 1.78 ^{ns}	20.71 \pm 1.78 ^{ns}
สี	20.80 \pm 2.14 ^a	20.87 \pm 2.73 ^a	18.33 \pm 1.73 ^c	19.67 \pm 1.19 ^b
คะแนนรวม	80.71 \pm 3.19 ^b	82.41 \pm 4.12 ^a	78.80 \pm 4.07 ^c	80.50 \pm 2.03 ^b

a, b, c, ... ตัวเลขที่มีตัวอักษรต่างกันกำกับ แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ความเชื่อมั่นร้อยละ 95

ns คือ ค่าเฉลี่ยไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ที่ความเชื่อมั่นร้อยละ 95

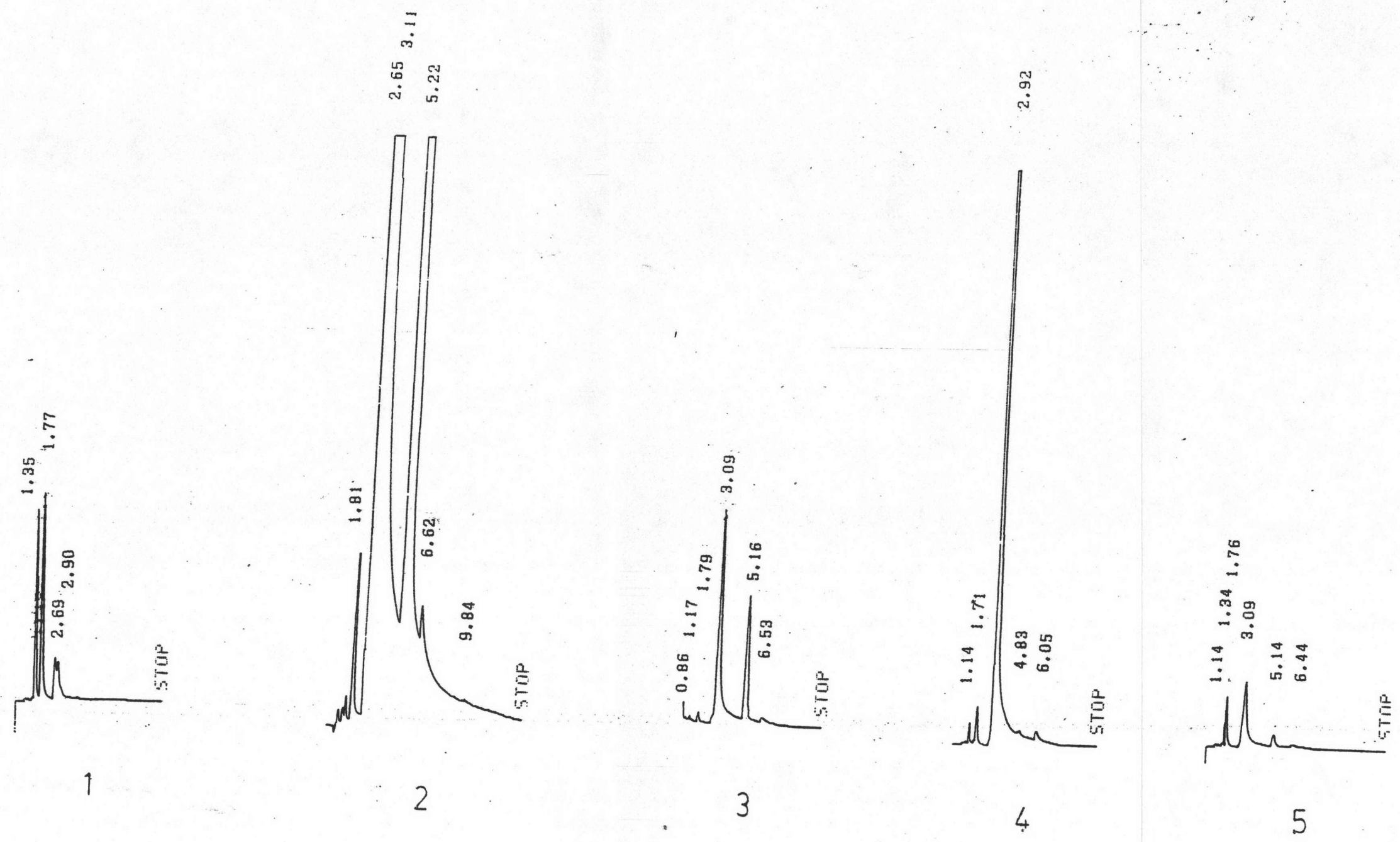
จากตารางที่ 5.22 คะแนนรวมของตัวอย่างที่ผ่านการทดสอบทางประสาทสัมผัสมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ความเชื่อมั่นร้อยละ 95 อย่างไรก็ตาม เมื่อพิจารณาเกณฑ์การตัดสินระดับชั้นของผลิตภัณฑ์น้ำชื้อวตาม มอก.252-2521 พบว่าน้ำชื้อวที่ผลิตได้ ตัวอย่างที่ 1 ซึ่งเป็นผลิตภัณฑ์น้ำชื้อวที่มีจำหน่ายในเชิงพาณิชย์ และตัวอย่างที่ 3 ซึ่งเป็นผลิตภัณฑ์น้ำชื้อวสปรูกรสที่มีจำหน่ายในเชิงพาณิชย์ สามารถจัดอยู่ในชั้นพิเศษ เนื่องจากมีคะแนนรวมไม่ต่ำกว่า 80 คะแนน ส่วนตัวอย่างที่ 2 ซึ่งเป็นผลิตภัณฑ์น้ำชื้อวที่มีจำหน่ายในเชิงพาณิชย์ จัดอยู่ในชั้นที่หนึ่ง เนื่องจากมีคะแนนรวมอยู่ระหว่าง 75- 80 คะแนน

เมื่อพิจารณาลักษณะด้านความใส กลิ่น และรส จะมีคะแนนเฉลี่ยของทุกตัวอย่างไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ความเชื่อมั่นร้อยละ 95 แต่ลักษณะด้านสี พบว่าน้ำชื้อวที่ผลิตได้ และตัวอย่างที่ 1 ซึ่งเป็นผลิตภัณฑ์น้ำชื้อวที่มีจำหน่ายในเชิงพาณิชย์ แตกต่างจากตัวอย่างที่ 2 ซึ่งเป็นผลิตภัณฑ์น้ำชื้อวที่มีจำหน่ายในเชิงพาณิชย์ และตัวอย่างที่ 3 ซึ่งเป็นผลิตภัณฑ์น้ำชื้อวสปรูกรสที่มีจำหน่ายในเชิงพาณิชย์ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ความเชื่อมั่นร้อยละ 95 โดยน้ำชื้อวที่ผลิตได้และตัวอย่างที่ 1 มีคะแนนมากกว่าตัวอย่างที่ 2 และตัวอย่างที่ 3

ผลการทดลองนี้แสดงให้เห็นว่า น้ำชื้อวที่ผลิตได้จากการทดลองเซลล์จุลินทรีย์ตรึงรูปร่วมกัน มีการยอมรับอยู่ในเกณฑ์ดีจากการประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัส และไม่แตกต่างไปจากตัวอย่างน้ำชื้อวและน้ำชื้อวสปรูกรสที่มีจำหน่ายในเชิงพาณิชย์มากนัก จึงสามารถใช้เป็นแนวทางการปรับปรุงกรรมวิธีการผลิตน้ำชื้อวของประเทศไทยได้

5.11.3 การวิเคราะห์สารประกอบให้กลืน

ผลการวิเคราะห์สารประกอบให้กลืน จากบริเวณช่องว่างเหนือของเหลวของโปรตีนไฮโดรไลเซตเริ่มต้น น้ำซึ่วที่ผลิตได้ ผลิตภัณฑ์น้ำซึ่วที่มีจำหน่ายในเชิงพาณิชย์ (ตัวอย่างที่ 1 และ 2) และผลิตภัณฑ์น้ำซอสปรุงรสที่มีจำหน่ายในเชิงพาณิชย์ (ตัวอย่างที่ 3) แสดงดังรูปที่ 5.24 และตารางที่ 5.23



รูปที่ 5.24 โครมาโตแกรมแสดงสารประกอบให้กลิ่นในโปรตีนไฮโดรไลเซตเริ่มต้น (1) น้ำอ้วกที่ผลิตได้ (2) ตัวอย่างที่ 1 (3) ตัวอย่างที่ 2 (4) และ ตัวอย่างที่ 3 (5)

ตารางที่ 5.23 การเปรียบเทียบสารประกอบหลักที่พบในน้ำชีวีที่ผลิตได้ ตัวอย่างที่ 1
ตัวอย่างที่ 2 และตัวอย่างที่ 3 เมื่อวิเคราะห์ด้วยแก๊สโครมาโตกราฟ

สารประกอบหลัก (retention time, นาที)	น้ำชีวีที่ผลิตได้ (retention time, นาที)	ตัวอย่างที่ 1 (retention time, นาที)	ตัวอย่างที่ 2 (retention time, นาที)	ตัวอย่างที่ 3 (retention time, นาที)
Acetone (1.12)	-	✓ (1.17)	✓ (1.14)	✓ (1.14)
Acetaldehyde (1.72)	-	-	✓ (1.71)	-
Methyl acetate (1.76)	-	-	-	✓ (1.76)
Isobutyl aldehyde (1.77)	-	✓ (1.79)	-	-
Ethyl formate (1.81)	✓ (1.81)	✓ (1.79)	-	-
Ethyl acetate (2.39)	-	-	-	-
Methyl alcohol (2.62)	-	-	-	-
Ethyl alcohol (2.96)	✓ (3.11)	✓ (3.09)	✓ (2.92)	✓ (3.09)
n-Propyl alcohol (5.18)	✓ (5.22)	✓ (5.16)	✓ (4.83)	✓ (5.14)
n-Butyl alcohol (9.43)	✓ (9.84)	-	-	-

จากโครมาโตแกรมแสดงสารประกอบให้กลิ่นในรูปที่ 5.24 น้ำซีอิ๊วที่ผลิต
ได้มีสารประกอบให้กลิ่นใกล้เคียงกับผลิตภัณฑ์น้ำซีอิ๊ว และผลิตภัณฑ์น้ำซอสปรุงรสที่มีจำหน่ายในเชิง
พาณิชย์ กล่าวคือ น้ำซีอิ๊วที่ผลิตได้มี ethyl formate, ethyl alcohol, และ n-propyl
alcohol เหมือนกับผลิตภัณฑ์น้ำซีอิ๊วที่มีจำหน่ายในเชิงพาณิชย์ (ตัวอย่างที่ 1) มี ethyl
alcohol และ n-propyl alcohol เหมือนกับผลิตภัณฑ์น้ำซีอิ๊วที่มีจำหน่ายในเชิงพาณิชย์ (ตัว
อย่างที่ 2) และผลิตภัณฑ์น้ำซอสปรุงรสที่มีจำหน่ายในเชิงพาณิชย์ (ตัวอย่างที่ 3) นอกจากนี้
น้ำซีอิ๊วที่ผลิตได้ยังมีสารประกอบให้กลิ่นมากกว่าโปรตีนไฮโดรไลเซตเริ่มต้น จากการ
เปรียบเทียบดังกล่าวข้างต้นแสดงให้เห็นว่า สารประกอบให้กลิ่นที่สำคัญและพบได้ในทุกตัวอย่างคือ
เอธิลแอลกอฮอล์ ซึ่งทำให้สามารถสรุปได้ว่า น้ำซีอิ๊วที่ผลิตได้จากโปรตีนไฮโดรไลเซตจาก
ถั่วเหลืองมีสารประกอบให้กลิ่นที่สำคัญเหมือนกับผลิตภัณฑ์น้ำซีอิ๊ว และผลิตภัณฑ์น้ำซอสปรุงรสที่มี
จำหน่ายในเชิงพาณิชย์